

Miguel Antonio Español Pueyo

Eficacia de la aplicación de  
medidas de control de *Listeria*  
*monocytogenes* en industrias  
elaboradoras de productos  
cárnicos listos para el consumo  
(LPC)

Departamento

Producción Animal y Ciencia de los  
Alimentos

Director/es

CUBERO MARTÍN, GUILLERMO  
YANGÜELA MARTÍNEZ, JAVIER

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada (by-nc-nd): No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

© Universidad de Zaragoza  
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606

Tesis Doctoral

# EFICACIA DE LA APLICACIÓN DE MEDIDAS DE CONTROL DE LISTERIA MONOCYTOGENES EN INDUSTRIAS ELABORADORAS DE PRODUCTOS CÁRNICOS LISTOS PARA EL

Autor

Miguel Antonio Español Pueyo

Director/es

CUBERO MARTÍN, GUILLERMO  
YANGÜELA MARTÍNEZ, JAVIER

**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**

Producción Animal y Ciencia de los Alimentos

2017





Departamento de  
Producción Animal  
y Ciencia de los Alimentos  
**Universidad** Zaragoza

## Eficacia de la aplicación de medidas de control de *Listeria monocytogenes* en industrias elaboradoras de productos cárnicos listos para el consumo (LPC)



**Miguel Antonio Español Pueyo**

**Zaragoza, Septiembre de 2017**





Departamento de  
Producción Animal  
y Ciencia de los Alimentos  
**Universidad** Zaragoza

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

**Eficacia de la aplicación de medidas de control  
de *Listeria monocytogenes* en industrias elaboradoras  
de productos cárnicos listos para el consumo (LPC)**

**TESIS DOCTORAL**

**Miguel Antonio Español Pueyo**

Zaragoza, septiembre de 2017







**Departamento de  
Producción Animal  
y Ciencia de los Alimentos**  
**Universidad Zaragoza**

Javier Yangüela Martínez, Profesor Emérito de Nutrición y Bromatología del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza y Guillermo Cubero Martín, Doctor en Veterinaria.

CERTIFICAN,

Que el trabajo contenido en la presente memoria de tesis doctoral titulada:

“Eficacia de la aplicación de medidas de control de *Listeria monocytogenes* en industrias elaboradoras de productos cárnicos listos para el consumo (LPC)” realizada por Miguel Antonio Español Pueyo, ha sido desarrollado bajo nuestra dirección y se corresponde y adecúa al proyecto de tesis aprobado por el Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Zaragoza, y cumple las condiciones exigidas para optar al título de Doctor por la Universidad de Zaragoza.

Y para que así conste, firmamos este certificado en Zaragoza, a 20 de septiembre de 2017.

Fdo.: Javier Yangüela Martínez

Fdo.: Guillermo Cubero Martín



Sería muy injusto no expresar mi enorme agradecimiento a muchas personas que me han ayudado permanentemente durante estos años a que pudiera finalizar este trabajo.

Entre ellos y muy especialmente:

- A la Dirección General de Salud Pública del Gobierno de Aragón que siempre me ha animado, apoyado y permitido llevarlo a cabo dentro de su propia estructura.
- Al Servicio de Seguridad Alimentaria y Ambiental y las tres Secciones de Higiene de los Alimentos de Huesca, Zaragoza y Teruel que han incluido entre sus actividades con mucho interés al Plan de Vigilancia de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos listos para el consumo (LPC), con toda la carga de trabajo añadido que suponía.
- Al Laboratorio de Salud Pública de Aragón y sus tres sedes provinciales que han sufrido la realización de más de tres mil analíticas y siempre con una total disponibilidad y colaboración.
- A los compañeros veterinarios del Servicio Veterinario Oficial de los Servicios Centrales, Provinciales y Locales que han visitado las treinta y cinco industrias cárnicas repetidamente y ejecutado el plan. En la mayoría de estas visitas hemos estado juntos y en otras me han facilitado toda la información obtenida. En todos los casos su participación y profesionalidad han sido excelentes y, por supuesto, sin su concurso no se hubiera podido realizar.
- A la Unidad de Nutrición y Bromatología, dirigida por el profesor del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos D. Antonio Herrera Marteache por su excelente acogida y disponibilidad de laboratorios y equipos utilizados en la realización de este trabajo de investigación.
- A mis Directores de Tesis, el Dr. Javier Yangüela Martínez y el Dr. Guillermo Cubero Martín por su accesibilidad absoluta, respuesta inmediata, entusiasmo y, sobre todo, por poner a mi disposición toda su mucha experiencia y saber. Entre ambos combinan los puntos de vista de la Universidad y la Administración Sanitaria en un tema que presenta diversos enfoques y, ante el cual, su asesoramiento ha sido de gran valía.
- A mi familia y amigos que me han animado y apoyado siempre y, muy especialmente, a mi mujer Blanca y mi hija Julia porque les he robado muchísimo tiempo que siempre me han regalado con una sonrisa y muchísima comprensión.

A todos, MUCHAS GRACIAS



*A mis padres, Julia y Antonio*

*A mis chicas, Blanca y Julia*



## ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras .....	xiii
Índice de tablas .....	xix
Listado de siglas y acrónimos .....	xxiii
Resumen.....	1
Summary.....	7
Capítulo 1. Introducción y objetivos.....	13
Capítulo 2. Revisión bibliográfica .....	25
2.1. Listeria.....	27
2.1.1. Taxonomía del género <i>Listeria</i> .....	27
2.1.2. Características de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	30
2.1.3. Serovariedades .....	31
2.1.4. Ecología .....	32
2.2. Listeriosis por consumo de alimentos .....	33
2.3. Patogenia .....	36
2.4. Formas de presentación de la listeriosis humana .....	38
2.4.1. Forma de gastroenteritis febril o listeriosis no invasiva .....	39
2.4.2. Listeriosis invasiva o listeriosis sistémica.....	39
2.4.2.1. Enfermedad gestacional y neonatal.....	39
2.4.2.2. Bacteriemia .....	40
2.4.2.3. Infección del sistema nervioso central.....	40
2.4.2.4. Otras formas .....	40

<b>2.5. Epidemiología. Clasificación como enfermedad de declaración obligatoria (EDO) .....</b>	<b>41</b>
2.5.1. Protocolo de la listeriosis según la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE).....	41
2.5.1.1. Definición de caso de listeriosis.....	42
2.5.1.1.1. Criterio clínico .....	42
2.5.1.1.2. Criterio de laboratorio .....	42
2.5.1.1.3. Criterio epidemiológico .....	42
2.5.1.1.4. Clasificación de los casos .....	43
2.5.1.2. Modo de vigilancia .....	43
2.5.1.2.1. Vigilancia en Aragón y en España .....	44
2.5.1.2.2. Vigilancia en la Unión Europea.....	47
<b>2.6. Brotes de listeriosis humana asociados al consumo de alimentos .....</b>	<b>48</b>
<b>2.7. <i>Listeria monocytogenes</i> y la exportación de productos cárnicos LPC .....</b>	<b>52</b>
2.7.1. Requerimientos en la Unión Europea (UE).....	52
2.7.1.1. Criterios microbiológicos para <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos LPC .....	53
2.7.1.2. Alimentos no favorecedores del crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	53
2.7.1.3. Muestreo de superficies.....	54
2.7.1.4. Estudios complementarios para evitar el riesgo de una listeriosis .....	55
2.7.2. Requerimientos en los Estados Unidos de América.....	56
2.7.2.1. Acuerdo ACTI (TTIP) .....	62
2.7.2.2. Establecimientos españoles autorizados para exportar carne y/o productos cárnicos de porcino a los Estados Unidos de América .....	63
2.7.3. Requerimientos en Canadá.....	65
2.7.4. Requerimientos en el Estado de Japón .....	68
2.7.4.1. Autorización para exportar productos cárnicos LPC a Japón .....	69



2.7.4.2. Nota Informativa sobre la modificación de los criterios microbiológicos para la detección de <i>Listeria monocytogenes</i> en productos cárnicos y quesos no tratados térmicamente.....	70
2.7.4.3. Control de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	71
2.7.4.4. Conservación de productos cárnicos listos para el consumo con destino a la exportación a Japón .....	72
2.7.5. Requerimientos en la Unión Económica Euroasiática: Federación de Rusia, República de Bielorrusia, República de Kazajistán, República de Armenia y República de Kirguistán .....	72
2.7.6. Requerimientos en la República de Sudáfrica .....	75
2.7.7. Requerimientos en la República Popular de China (China) .....	77
2.7.8. Requerimientos en la República de Corea (Corea del Sur) .....	78
2.7.9. Requerimientos en la República de Singapur .....	80
2.7.10. Requerimientos en la República de Filipinas .....	81
2.7.11. Requerimientos en Malasia.....	82
2.7.12. Requerimientos en la República de China (Taiwán) .....	83
2.7.13. Requerimientos en la Región Administrativa Especial de Hong Kong.....	84
2.7.14. Requerimientos en la República Socialista de Vietnam.....	84
2.7.15. Requerimientos en los Estados Unidos Mexicanos .....	85
2.7.16. Requerimientos en la República de Colombia .....	87
2.7.17. Requerimientos en la República Argentina .....	88
2.7.18. Requerimientos en la República Federativa de Brasil .....	89
2.7.19. Requerimientos en la República de Chile .....	90
2.7.20. Requerimientos en la República de Panamá.....	92
2.7.21. Requerimientos en la República de Costa Rica.....	93
2.7.22. Requerimientos en la República de Nicaragua.....	93
2.7.23. Requerimientos en la República Dominicana.....	94
2.7.24. Requerimientos en el Estado Libre Asociado de Puerto Rico.....	94

2.7.25. Requerimientos en el Estado de Israel.....	95
2.7.26. Requerimientos en el Reino de Arabia Saudita.....	96
2.7.27. Requerimientos en la República de Indonesia .....	97
<b>2.8. Procedimiento y requisitos de la certificación verinaria oficial para la exportación .....</b>	<b>97</b>
2.8.1. Sistema de autocontrol específico (SAE).....	98
2.8.1.1. Utilidad del SAE.....	98
2.8.1.2. Establecimientos que precisan un SAE certificado por un OIC..	98
2.8.1.3. Tipos de acuerdos sanitarios de exportación (ASE) que determinan diferentes niveles de autocontrol (SAE) .....	98
2.8.1.4. Elementos que componen un sistema de autocontrol específico (SAE).....	99
2.8.2. Lista marco .....	99
<b>2.9. Procedimiento de solicitud de inclusión en listas de establecimientos autorizados para exportar productos de origen animal destinados al consumo humano a terceros países .....</b>	<b>100</b>
2.9.1. Objetivo del procedimiento .....	100
2.9.1.1. Ámbito de aplicación.....	100
2.9.1.2. Descripción del procedimiento.....	101
2.9.1.3. Instrucciones de cumplimentación en CEXGAN 2.0 del Formulario general de solicitud .....	103
Anexo I. Ámbito de aplicación del procedimiento de solicitud de inclusión en listas de establecimientos autorizados para exportar productos de origen animal destinados al consumo humano a terceros países.....	105
<b>Capítulo 3. Material y métodos.....</b>	<b>113</b>
<b>3.1. Plan de vigilancia de <i>Listeria monocytogenes</i> en productos cárnicos listos para el consumo .....</b>	<b>116</b>
3.1.1. Objetivo .....	116

3.1.2. Ámbito .....	116
3.1.3. Actividades .....	117
3.1.3.1. Selección de establecimientos .....	118
<b>3.2. Visita inicial de supervisión y toma de muestras (1.<sup>a</sup> toma de muestras) .....</b>	<b>118</b>
3.2.1. Supervisión.....	118
3.2.2. Toma de muestras.....	119
3.2.2.1. Superficies en contacto y aguas de condensación.....	119
3.2.2.2. Muestras de superficies .....	119
3.2.2.3. Muestras de agua.....	120
3.2.2.4. Muestras de producto.....	121
3.2.3. Material necesario .....	121
3.2.4. Metodología de toma de muestras de superficies y agua .....	121
3.2.5. Metodología de toma de muestras de producto cárnico listo para el consumo (tanto para microbiología como para ph y a <sub>w</sub> ) .....	122
3.2.6. Transporte al laboratorio.....	122
3.2.7. Inicio de los análisis .....	123
<b>3.3. Traslado de las conclusiones de la visita inicial y establecimiento del plan de acción (2.<sup>a</sup> visita) .....</b>	<b>123</b>
3.3.1. Medidas de control.....	124
<b>3.4. Visita de seguimiento de las medidas de control incluidas en el plan de acción (3.<sup>a</sup> visita) y toma de muestras (2.<sup>a</sup> toma de muestras) ..</b>	<b>125</b>
3.4.1. Supervisión.....	125
3.4.2. Toma de muestras.....	125
<b>3.5. Visita de seguimiento de las medidas de control (4.<sup>a</sup> visita) y toma de muestras a establecimientos de años anteriores (3.<sup>a</sup> toma de muestras) .....</b>	<b>125</b>
<b>3.6. Análisis de resultados y medidas que se muestran más eficaces .....</b>	<b>126</b>
<b>3.7. Laboratorios.....</b>	<b>126</b>
3.7.1. Material necesario .....	126

3.7.1.1. Medios de cultivo.....	126
3.7.1.1.1. Medios líquidos .....	126
3.7.1.1.2. Medios sólidos .....	127
3.7.1.2. Pruebas bioquímicas de identificación .....	129
3.7.1.2.1. Pruebas de confirmación a nivel de género .....	129
3.7.1.2.2. Pruebas de confirmación a nivel de especie .....	130
3.7.1.3. Equipos.....	131
3.7.1.4. Material desechable .....	132
3.7.1.5. Material de vidrio y metálico .....	133
3.7.1.6. Otros.....	134
3.7.2. Técnicas analíticas microbiológicas .....	134
3.7.2.1. Investigación de <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos y muestras ambientales .....	135
3.7.2.1.1. Lectura de las placas de agar ALOA y agar PALCAM .....	136
3.7.2.1.2. Confirmación de colonias típicas en agar ALOA Confirmation .....	137
3.7.2.2. Investigación de <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos y muestras ambientales siguiendo la norma acreditada ITE M100-02 .....	139
3.7.2.3. Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos siguiendo la norma UNE-EN-ISO 11290-2 .....	140
3.7.2.4. Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos siguiendo la norma acreditada ITE M103-02 incorporando el método alternativo ALOA Count .....	141
3.7.2.5. Detección de <i>Listeria</i> spp. en alimentos y superficies .....	142
3.7.3. Técnicas analíticas fisicoquímicas .....	144
<b>3.8. Formularios de auditoría para los productos cárnicos LPC .....</b>	<b>145</b>
3.8.1. Descripción del producto, materias primas, envasado, etiquetado y vida útil de los productos susceptibles de crecimiento de <i>Listeria</i> (PSCL) .....	146

3.8.2. Descripción de la tecnología de la fabricación (tratamiento térmico, cultivos estériles, enzimas, coadyuvantes tecnológicos, reprocesos o procesos paralelos).....	150
3.8.3. Plan de limpieza y desinfección.....	152
3.8.4. Procedimientos preoperativos y operativos de control de la higiene y PNCH .....	154
3.8.5. Descripción del sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico frente al peligro <i>Listeria monocytogenes</i> .....	155
3.8.6. Histórico de resultados analíticos de listeria en la industria .....	156
3.8.7. Registro de toma de muestras durante la ejecución del plan .....	159
<b>3.9. Tratamiento de los datos obtenidos en el plan de vigilancia</b> .....	160
3.9.1. Grupos de industrias según especialidad productiva. Han sido 35 industrias agrupadas en 5 tipos de productos cárnicos .....	160
3.9.2. Grupos de productos cárnicos listos para el consumo. Han sido 36 elaborados cárnicos agrupados en 5 grupos de productos cárnicos .....	160
3.9.3. Grupos de superficies relacionadas directa o indirectamente con los grupos de productos cárnicos (5) .....	161
3.9.4. Grupos de medidas de control (8) .....	163
<b>Capítulo 4. Resultados y discusión</b> .....	167
<b>4.1. Descriptivos</b> .....	169
4.1.1. Valores de pH y $a_w$ de los productos cárnicos analizados .....	169
4.1.2. Presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Listeria spp.</i> y medidas de control en las industrias seleccionadas.....	171
4.1.2.1. Industria A1. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo) .....	172
4.1.2.2. Industria A2. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo).....	172
4.1.2.3. Industria A3. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza) .....	175

4.1.2.4. Industria A4. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo).....	176
4.1.2.5. Industria A5. Elaboradora de productos picados crudos curados (salchichón) .....	178
4.1.2.6. Industria A6. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza) .....	180
4.1.2.7. Industria A7. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza) .....	181
4.1.2.8. Industria A8. Elaboradora de productos cocidos (butifarra).....	183
4.1.2.9. Industria A9. Elaboradora de productos en salazón (jamón curado) .....	184
4.1.2.10. Industria A10. Elaboradora de productos en salazón (lomo ibérico).....	186
4.1.2.11. Industria A11. Elaboradora de platos preparados cárnicos (rotí de pollo) .....	188
4.1.2.12. Industria A12. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo).....	190
4.1.2.13. Industria A13. Elaboradora de productos picados crudos curados (secallona).....	191
4.1.2.14. Industria A14. Elaboradora de platos preparados cárnicos (costilla de cerdo asada).....	193
4.1.2.15. Industria B1. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo).....	195
4.1.2.16. Industria B2. Elaboradora de productos loncheados (jamón loncheado).....	196
4.1.2.17. Industria B3. Elaboradora de productos cárnicos cocidos (mortadela).....	198
4.1.2.18. Industria B4. Elaboradora de productos loncheados (salchichón) .....	200
4.1.2.19. Industria B5. Elaboradora de productos loncheados (lomo ibérico).....	201

4.1.2.20. Industria B6. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo).....	203
4.1.2.21. Industria B7. Elaboradora de productos loncheados (jamón loncheado) .....	204
4.1.2.22. Industria B8. Elaboradora de productos loncheados (jamón loncheado) .....	205
4.1.2.23. Industria B9. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza) .....	207
4.1.2.24. Industria B10. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza) .....	208
4.1.2.25. Industria B11. Elaboradora de productos loncheados (jamón curado loncheado) .....	210
4.1.2.26. Industria C1. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo).....	211
4.1.2.27. Industria C2. Elaboradora de productos cocidos (salchichas de tipo Frankfurt) .....	213
4.1.2.28. Industria C3. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza) .....	214
4.1.2.29. Industria C4. Elaboradora de productos cocidos (butifarra).....	215
4.1.2.30. Industria C5. Elaboradora de productos loncheados (lomo ibérico loncheado) .....	216
4.1.2.31. Industria C6. Elaboradora de productos cocidos (mortadela) ..	218
4.1.2.32. Industria C7. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo).....	219
4.1.2.33. Industria C8. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza) .....	221
4.1.2.34. Industria C9. Elaboradora de productos picados crudos curados (salchichón) .....	223
4.1.2.35. Industria C10. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo).....	224

<b>4.2. Resultados por grupos de productos cárnicos .....</b>	<b>226</b>
4.2.1. Grupo de productos picados crudos curados .....	227
4.2.1.1. <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. en productos y superficies .....	227
4.2.1.1.1. Resultados del conjunto de los chorizos .....	228
4.2.1.1.2. Resultados del conjunto de las longanizas .....	229
4.2.1.1.3. Resultados del conjunto de los salchichones .....	230
4.2.1.2. Resultados del conjunto de superficies .....	230
4.2.1.3. Medidas de control puestas en práctica en este grupo.....	232
4.2.2. Grupo de productos cocidos.....	235
4.2.2.1. <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. en productos y superficies .....	235
4.2.2.1.1. Resultados del conjunto de las butifarras .....	236
4.2.2.1.2. Resultados del conjunto de fiambre de jamón de york y jamón de york.....	237
4.2.2.1.3. Resultados del conjunto de las morcillas.....	238
4.2.2.1.4. Resultados del conjunto de las salchichas Frankfurt .....	239
4.2.2.2. Resultados del conjunto de las superficies.....	240
4.2.2.3. Medidas de control puestas en práctica en este grupo.....	240
4.2.3. Grupo de las salazones .....	243
4.2.3.1. <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. en productos y superficies .....	243
4.2.3.1.1. Resultados del conjunto de los jamones curados .....	244
4.2.3.1.2. Resultados del conjunto del lomo ibérico.....	244
4.2.3.2. Resultados del conjunto de las superficies.....	245
4.2.3.3. Medidas de control puestas en práctica en este grupo.....	246
4.2.4. Grupo de los productos loncheados .....	248
4.2.4.1. <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. en productos y superficies .....	248



4.2.4.1.1. Resultados del conjunto de los loncheados crudos curados .....	248
4.2.4.1.2. Resultados del conjunto de los loncheados en salazón....	249
4.2.4.1.3. Resultados del conjunto de los loncheados cocidos.....	249
4.2.4.1.4. Resultados del conjunto de los loncheados de jamón .....	250
4.2.4.1.5. Resultados del conjunto de los loncheados de chorizo ...	251
4.2.4.1.6. Resultados del conjunto de los loncheados de lomo ibérico .....	251
4.2.4.1.7. Resultados del conjunto de los loncheados de salchichón .....	252
4.2.4.2. Resultados del conjunto de las superficies .....	253
4.2.4.3. Medidas de control puestas en práctica en este grupo.....	254
4.2.5. Grupo de los platos preparados cárnicos .....	257
4.2.5.1. <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. en productos y superficies .....	257
4.2.5.2. Medidas de control puestas en práctica en este grupo.....	258
4.2.6. ESTUDIO ESTADÍSTICO .....	261
4.2.6.1. Inferenciales.....	261
4.2.6.1.1. Objetivos.....	261
4.2.6.1.2. Inferencia.....	261
4.2.6.1.2.1. En las variables numéricas.....	261
4.2.6.1.2.2. En las variables categóricas.....	262
4.2.6.1.3. Resultados .....	262
4.2.6.1.3.1. Recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> en productos antes y después de tomar medidas de control.....	262
4.2.6.1.3.2. Presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en productos antes y después de tomar medidas de control.....	264
4.2.6.1.3.3. Presencia de <i>Listeria</i> spp en productos antes y después de tomar medidas de control.....	265

---

4.2.6.1.3.4. Presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en superficies antes y después de tomar medidas de control.....	266
4.2.6.1.3.5. Presencia de <i>Listeria</i> spp. en superficies antes y después de tomar medidas de control.....	267
<b>Capítulo 5. Conclusiones.....</b>	<b>269</b>
<b>Chapter 5. Conclusions.....</b>	<b>277</b>
<b>Capítulo 6. Referencias bibliográficas .....</b>	<b>285</b>

## Índice de figuras

Figura 1. Criterios y documentación requeridos para la inclusión en listas de establecimientos exportadores.....	106
Figura 2. Diseño analítico de investigación o detección de <i>Listeria monocytogenes</i> según la norma UNE-EN-ISO 11290-1.....	136
Figura 3. Colonias típicas de <i>Listeria monocytogenes</i> en agar ALOA y en agar PALCAM.....	137
Figura 4. Medio ALOA Confirmation y sentido de la siembra.....	138
Figura 5. Interpretación de crecimiento y hemólisis en medio ALOA Confirmation para distinguir <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. ivanovii</i> y <i>L. innocua</i> .....	138
Figura 6. Esquema analítico del método de investigación de <i>Listeria monocytogenes</i> , norma ITE M100-02 .....	139
Figura 7. Diseño analítico del método de recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> según UNE-EN-ISO 11290-2 .....	140
Figura 8. Esquema analítico del método de recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> ITE M103-2.....	141
Figura 9. Procedimiento interno de determinación de <i>Listeria</i> spp. del Laboratorio de Salud Pública de Aragón.....	143
Figura 10. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados A1 (chorizo y superficie de la picadora) .....	172
Figura 11. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados A2 (chorizo y superficie de la amasadora) .....	173
Figura 12. Evolución <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. En la industria de picados crudos curados A3 (longaniza y superficie de la grapadora) .....	175
Figura 13. Evolución <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados A4 (chorizo y superficie de la amasadora) .....	176
Figura 14. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados A5 (salchichón y superficie de la embutidora) .....	178
Figura 15. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados A6 (longaniza y superficie de la amasadora) .....	180

Figura 16. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados A7 (longaniza y superficie del carro de curados) .....	181
Figura 17. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de cocidos A8 (butifarra y superficie del carro transporte de cocidos) .....	183
Figura 18. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de salazones A9 (jamón curado y superficie de la cinta transportadora) .....	184
Figura 19. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de salazones A10 (lomo ibérico y superficie de la cinta transportadora) .....	186
Figura 20. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de platos preparados cárnicos A11 (rotí de pollo y superficie de la cinta transportadora) .....	188
Figura 21. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados A12 (chorizo y superficie del carro de curados) .....	190
Figura 22. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados A13 (secallona y superficie de la embutidora) .....	191
Figura 23. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de platos preparados cárnicos A14 (costilla de cerdo asada y superficie del carro de cocidos) .....	193
Figura 24. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados B1 (chorizo y superficie de la amasadora) .....	195
Figura 25. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de loncheados B2 (jamón loncheado y superficie del corte) .....	196
Figura 26. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de cocidos B3 (mortadela y superficie de la mesa de contacto) .....	198
Figura 27. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de loncheados B4 (salchichón loncheado y superficie de la lonheadora) .....	200
Figura 28. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de loncheados B5 (panceta ibérica loncheada y superficie de la mesa de contacto) .....	201
Figura 29. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados B6 (chorizo y superficie de carro de curados) .....	203
Figura 30. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de loncheados B7 (jamón loncheado y superficie de la lonheadora) .....	204

Figura 31. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de loncheados B8 (jamón loncheado y superficie de la loncheadora).....	205
Figura 32. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados B9 (longaniza y superficie de la grapadora) .....	207
Figura 33. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados B10 (longaniza y superficie de la embutidora).....	208
Figura 34. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de loncheados B11 (jamón curado loncheado y superficie de la cinta transportadora).....	210
Figura 35. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados C1 (chorizo y superficie de la embutidora) .....	211
Figura 36. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de cocidos C2 (salchichas de tipo Frankfurt y superficie de la mesa de contacto).....	213
Figura 37. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados C3 (longaniza y superficie de la picadora) .....	214
Figura 38. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de cocidos C4 (butifarra y superficie de la mesa de contacto) .....	215
Figura 39. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de loncheados C5 (lomo ibérico loncheado y superficie de la cinta transportadora) .....	216
Figura 40. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de cocidos C6 (mortadela y superficie de la mesa de contacto) .....	218
Figura 41. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados C7 (chorizo y superficie de la amasadora).....	219
Figura 42. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados C8 (longaniza y superficie de la picadora) .....	221
Figura 43. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados C9 (salchichón y superficie de la picadora).....	223
Figura 44. Evolución de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. en la industria de picados crudos curados C10 (chorizo y superficie de la mesa de contacto).....	224
Figura 45. Resultados en los picados crudos curados. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	227
Figura 46. Resultados en las superficies. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. ....	228

Figura 47. Resultados en los chorizos. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	228
Figura 48. Resultados en las longaniza. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	229
Figura 49. Resultados en los salchichones. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	230
Figura 50. Resultados en las superficies de las picadoras. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. ....	230
Figura 51. Resultados en las superficies de las amasadoras. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. ....	231
Figura 52. Resultados en las superficies de las embutidoras. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. ....	231
Figura 53. Grupo picados crudos curados. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas.....	234
Figura 54. Resultados en los cocidos. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	235
Figura 55. Resultados en las superficies. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp.....	236
Figura 56. Resultados en las butifarras. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	236
Figura 57. Resultados en los fiambres de jamón de york. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	237
Figura 58. Resultados en los jamones de york. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	237
Figura 59. Resultados en las morcillas. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	238
Figura 60. Resultados en las salchichas tipo Frankfurt. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	239
Figura 61. Resultados de las superficies de las cubetas de transporte de cocidos. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. ....	240
Figura 62. Grupo cocidos. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas .....	242

Figura 63. Resultados en los productos cárnicos en salazón. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	243
Figura 64. Resultados de las superficies. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. ....	243
Figura 65. Resultados en los jamones curados. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	244
Figura 66. Resultados en los lomos ibéricos. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	244
Figura 67. Resultados del conjunto de superficies de las salazones (cintas transportadoras, descortezadoras y prensas de jamón). Detección de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp.....	245
Figura 68. Grupo salazones. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas.....	247
Figura 69. Resultados del grupo de los loncheados crudos curados. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	248
Figura 70. Resultados del grupo de los loncheados salazones. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	249
Figura 71. Resultados del grupo de los loncheados cocidos. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	249
Figura 72. Resultados en los loncheados de jamón. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	250
Figura 73. Resultados en los loncheados de chorizo. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	251
Figura 74. Resultados en los loncheados de lomo ibérico. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	251
Figura 75. Resultados en los loncheados de salchichón. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	252
Figura 76. Resultados del conjunto de las superficies de las industrias de loncheados. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. ....	253
Figura 77. Resultados de las superficies de las loncheadoras y de las bandejas de contacto. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. ....	253
Figura 78. Grupo loncheados. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas.....	256

---

Figura 79. Resultados en los alimentos. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp. y recuento de <i>L. monocytogenes</i> .....	257
Figura 80. Resultados de las superficies. Detección de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Listeria</i> spp. ....	257
Figura 81. Grupo platos preparados cárnicos. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas.....	259
Figura 82. Gráfico general de las medidas de control tomadas en todas las industrias. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas .....	260



# Índice de tablas

Tabla 1. Especies del género <i>Listeria</i> .....	28
Tabla 2. Propiedades bioquímicas de <i>Listeria monocytogenes</i> y de <i>Listeria innocua</i> .....	29
Tabla 3. Descripciones epidemiológicas de la enfermedad listeriosis notificadas entre 2009 y 2016 en España.....	45
Tabla 4. Riesgo relativo de listeriosis en determinadas poblaciones humanas.....	49
Tabla 5. Brotes alimentarios de <i>Listeria monocytogenes</i> y alimentos implicados.....	49
Tabla 6. Criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios para <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos LPC según el R. 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005.....	53
Tabla 7. Establecimientos españoles autorizados para exportar carne y/o productos cárnicos de porcino a los Estados Unidos de América (enero 2017).....	64
Tabla 8. Determinaciones o parámetros solicitados al laboratorio.....	123
Tabla 9. Formulario de auditoría y toma de muestras para productos cárnicos listos para el consumo (LPC), en el plan de vigilancia de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	145
Tabla 10. Descripción de las tecnologías de fabricación que influyen en el control de <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> .....	150
Tabla 11. Plan de limpieza y desinfección.....	152
Tabla 12. Procedimientos de control de la higiene, antes, durante y después de las operaciones y/o programa normalizado de control de la higiene (PNCH) .....	154
Tabla 13. Sistema APPCC de la industria.....	155
Tabla 14. Histórico de resultados analíticos de <i>Listeria</i> en la industria .....	157
Tabla 15. Actuaciones ante resultados analíticos positivos a <i>Listeria</i> en la industria.....	158
Tabla 16. Hoja de toma de muestras a cumplimentar en las industrias .....	159
Tabla 17. Valores de pH y $a_w$ obtenidos en los grupos de productos cárnicos LPC (amplitud, media y varianza).....	169
Tabla 18. Valores de pH y $a_w$ obtenidos en los productos LPC más característicos de cada grupo (amplitud, media y varianza).....	170
Tabla 19. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A1 (picados crudos curados) .....	172
Tabla 20. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A2 (picados crudos curados) .....	174

Tabla 21. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A3 (picados crudos curados) .....	175
Tabla 22. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A4 (picados crudos curados) .....	177
Tabla 23. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A5 (picados crudos curados) .....	179
Tabla 24. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A6 (picados crudos curados) .....	180
Tabla 25. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A7 (picados crudos curados) .....	182
Tabla 26. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A8 (cocidos) .....	183
Tabla 27. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A9 (salazones) .....	185
Tabla 28. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A10 (salazones) .....	186
Tabla 29. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A11 (platos preparados cárnicos) .....	188
Tabla 30. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A12 (picados crudos curados) .....	190
Tabla 31. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A13 (picados crudos curados) .....	192
Tabla 32. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A14 (platos preparados cárnicos) .....	193
Tabla 33. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B1 (picados crudos curados) .....	195
Tabla 34. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B2 (loncheados) .....	197
Tabla 35. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B3 (cocidos) .....	199
Tabla 36. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B4 (loncheados) .....	200
Tabla 37. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B5 (loncheados) .....	202
Tabla 38. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B6 (picados crudos curados) .....	203
Tabla 39. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B7 (loncheados) .....	204
Tabla 40. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B8 (loncheados) .....	206
Tabla 41. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B9 (picados crudos curados) .....	207
Tabla 42. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B10 (picados crudos curados) .....	209
Tabla 43. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B11 (loncheados) .....	210
Tabla 44. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C1 (picados crudos curados) .....	211
Tabla 45. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C4 (cocidos) .....	215
Tabla 46. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C5 (loncheados) .....	216
Tabla 47. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C6 (cocidos) .....	218

Tabla 48. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C7 (picados crudos curados).....	220
Tabla 49. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C8 (picados crudos curados).....	222
Tabla 50. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C9 (picados crudos curados).....	223
Tabla 51. Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C10 (picados crudos curados) .....	225
Tabla 52. Medidas de control tomadas en el conjunto de las industrias de productos picados crudos curados y su proporción .....	232
Tabla 53. Medidas de control tomadas en el conjunto de las industrias de productos cocidos y su proporción.....	240
Tabla 54. Medidas de control tomadas en el conjunto de las industrias de productos en salazón y su proporción.....	246
Tabla 55. Medidas de control tomadas en el conjunto de las industrias de productos loncheados y su proporción.....	254
Tabla 56. Medidas de control tomadas en el grupo de los platos preparados cárnicos.....	258
Tabla 57. Pruebas de normalidad para el recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> antes de la toma de medidas de control de <i>Listeria</i> (recuento 1).....	263
Tabla 58. Pruebas de normalidad para el recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> después de la toma de medidas de control de <i>Listeria</i> (recuento 2).....	263
Tabla 59. Pruebas de homogeneidad de varianza para el recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> entre los grupos antes y después de la toma de medidas de control de <i>Listeria</i> .....	263
Tabla 60. Pruebas de Wilcoxon para muestras relacionadas. Se comparó la variable recuento antes y después de la toma de medidas de control de <i>Listeria</i> , para todos los productos cárnicos y para cada grupo de productos en particular .....	263
Tabla 61. Pruebas de McNemar para muestras relacionadas. Se comparó la variable presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> antes y después de la toma de medidas de control de <i>Listeria</i> , para todos los productos cárnicos y para cada grupo de productos en particular .....	264
Tabla 62. Pruebas de McNemar para muestras relacionadas. Se comparó la variable presencia de <i>Listeria</i> spp. antes y después de la toma de medidas de control de <i>Listeria</i> , para todos los productos cárnicos y para cada grupo de productos en particular .....	265
Tabla 63. Pruebas de McNemar para muestras relacionadas. Se comparó la variable presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> antes y después de la toma de medidas de control de <i>Listeria</i> , para todas las superficies de trabajo y para cada grupo de superficies en particular .....	266

---

Tabla 64. Pruebas de McNemar para muestras relacionadas. Se comparó la variable presencia de <i>Listeria</i> spp. antes y después de la toma de medidas de control de <i>Listeria</i> , para todas las superficies de trabajo y para cada grupo de superficies en particular.....	267
---	-----

## Listado de siglas y acrónimos

- AECOSAN** Agencia española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición.
- AESA** Agencia española de seguridad alimentaria.
- AESAN** Agencia española de seguridad alimentaria y nutrición.
- AOAC** Asociación Oficial de Químicos Analistas (Association of Official Analytical Chemists).
- APHIS** Servicio de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas (Animal and Plant Inspection Service).
- APPCC** análisis de peligros y puntos de control crítico.
- ASE** Acuerdo Sanitario de Exportación (certificados veterinario de exportación).
- ATCI** Asociación Transatlántica para el Comercio y la Inversión.
- ATP** trifosfato de adenosina (indicador de materia orgánica).
- AUPSA** Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos.
- AVA** Autoridad agroalimentaria y veterinaria de Singapur (Agri-food & Veterinary Authority de Singapur).
- a<sub>w</sub>** actividad agua.
- BAI** Despacho de Industrias de productos de origen animal de Filipinas (Bureau of Animal Industry of Filipinas).
- BAPHIQ** Despacho de Inspección Sanitaria de Animales y Plantas y Cuarentena de Taiwan (Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine de Taiwan).
- BPF** buenas prácticas de fabricación.
- C. A.** comunidad autónoma.
- CC. AA.** Comunidades Autónomas.
- CCAES** Centro Coordinador de Alertas y Emergencias Sanitarias.
- CDC** Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention, EE. UU.).
- CEXGAN** Comercio Exterior Ganadero.
- CFIA** Agencia de Inspección Alimentaria de Canadá (Canadian Food Inspection Agency).
- CFR** Código de Regulaciones Federales (Code of Federal Regulations, EE. UU.).

**CFS** Certificado de Libre Venta (Certificate Free Sale).

**CFSAN** Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición Aplicada (Center for Food Safety and Applied Nutrition, EE. UU.).

**CNCA** Administración de Certificación y Acreditación de la República Popular de China (National Certification Administration of China).

**CNE** Centro Nacional de Epidemiología.

**CODEX ALIMENTARIUS** Código Alimentario.

**CP** sala de despiece (Cutting Plant).

**CPR** Certificate of Product Registration (Requerido por Filipinas).

**CS** almacenamiento en frío (Cold Storage).

**DAFF** Departamento de Agricultura, Silvicultura y Pesca de la República de Sudáfrica (Department of Agriculture, Forestry and Fisheries of the Republic of South Africa).

**DGSP** Dirección General de Salud Pública.

**DGSPA** Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria.

**DGSPCI** Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación.

**DIPOA** Departamento de Inspección de Productos de Origen Animal de Brasil (Departamento de Inspeção de Produtos de Origen Animal de Brasil).

**ECDC** Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades (European Centre for Diseases Prevention and Control).

**ECFF** Federación Europea de Alimentos Refrigerados (European Chilled Food Federation).

**EDO** Enfermedad de declaración obligatoria.

**EE. UU.** Estados Unidos de América.

**EFSA** Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority).

**ENAC** Entidad Nacional de Acreditación.

**EPS** sustancia polimérica extracelular (Exocellular Polymeric Substance).

**EWRS** Sistema de alerta precoz y respuesta para la vigilancia y control de las enfermedades transmisibles de la Comisión Europea (Early Warning and Response System).

**FAO** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (Food and Agriculture Organization of the United Nations).

- FCS** superficie en contacto directo con el alimento (Food Contact Surface).
- FDA** Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration).
- FEHD-HKSAR** Departamento de Higiene Alimentaria y Ambiental de la Región Administrativa de Hong Kong (Food and Environmental Hygiene Department-Hong Kong Special Administrative Region).
- FSAI** Autoridad de Seguridad Alimentaria de Irlanda (Food Safety Authority of Ireland).
- FSIS** Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria (Food Safety and Inspection Service).
- FSO** Objetivo de Seguridad Alimentaria (Food Safety Objective).
- GFO** Organización de Normas del Golfo (Gulf Standard Organization).
- HPP** procesado por altas presiones (High Pressure Processing).
- ICA** Instituto Colombiano Agropecuario.
- ICMSF** Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos (International Commission on Microbiological Specifications for Foods).
- IJSB** Revista Internacional de Sistemática Bacteriana (International Journal of Systematic Bacteriology).
- IJSEM** Revista Internacional de Sistemática y Evolución Microbiológica (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology).
- INVIMA** Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos de la República de Colombia.
- IPPC** Convención Internacional de Protección Fitosanitaria.
- ISC III** Instituto de Salud Carlos III. Madrid.
- ISO** Organización Internacional de Normalización (International Organization for Standardization).
- Lm** *Listeria monocytogenes*.
- Lsp** otras especies de *Listeria* distintas de *Listeria monocytogenes*.
- LCR** líquido céfalo-raquídeo.
- LD y L+D** limpieza y desinfección.
- log** logaritmo.
- LPC** listos para el consumo (Ready to Eat, RTE).
- MAGRAMA** Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
- MAPAMA** Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.

**MHLW** Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar de Japón (Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan).

**ml** mililitros.

**MPa** megapascal.

**MSM** Carne separada mecánicamente (Mechanically Separated Meat).

**MSSSI** Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

**NFC** superficie que no está en contacto directo con el alimento (No Food Contact surface).

**NMIS** Servicio Nacional de Inspección de la Carne de Filipinas (National Meat Inspection Service of Filipinas).

**OIC** Organismo independiente de control.

**OIE** Organización Mundial de Sanidad Animal (hasta 2003 se denominaba Oficina Internacional de Epizootias) (World Organization for Animal Health).

**OMC** Organización Mundial del Comercio.

**OMS/WHO** Organización Mundial de la Salud (World Health Organization).

**OTC/TBT** Acuerdo de obstáculos técnicos al comercio (Technical Barriers to Trade).

**PCC** punto de control crítico.

**PCR** reacción en cadena de la polimerasa.

**pH** potencial de hidrógeno (índice de acidez).

**PNCH** programa normalizado de control de la higiene (también conocido por programas operativos estándar de saneamiento, POES) (en inglés, Sanitization Standard Operative Program, SSOP).

**POA** productos de origen animal.

**PP** industria cárnica (Processing Plant).

**PPR** programa de prerrequisitos.

**PSCL** productos susceptibles de crecimiento de *Listeria*.

**QIA** Agencia de cuarentena de animales y plantas de la República de Corea (Animal and Plant Quarantine Agency of de Republica of Korea).

**R. 2073/2005** Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (Texto pertinente a efectos EEE).

**RENAVE** Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.



- RGSEAA** registro general sanitario de empresas alimentarias y alimentos (antes registro general sanitario de alimentos, RGSA).
- RW** centro de reenvasado (Rewrapping Establishment).
- SAE** Sistema de autocontrol específico para exportar.
- SAG** Servicio Agrícola y Ganadero de Chile.
- SAGARPA** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación de México.
- SENASA** Servicio Nacional de Sanidad Animal de Costa Rica.
- SENASA** Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de Argentina.
- SENASICA** Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria de México.
- SFDA** Autoridad Saudí de Alimentos y Medicamentos (Saudi Food & Drug Authority).
- SGSE** Subdirección General de Sanidad Exterior.
- SIAPR** Sistema Nacional de Alerta Precoz y Respuesta Rápida.
- SIM** Sistema de Información Microbiológica.
- SNC** sistema nervioso central.
- SPS** Medidas sanitarias y fitosanitarias (MSF) (Sanitary and Phytosanitary Measures).
- SVO** Servicios veterinarios oficiales.
- TIF** Tipo inspección federal, México.
- TTIP** Asociación Transatlántica para el Comercio y la Inversión, ATCI (Transatlantic Trade and Investment Partnership).
- UA** Unión Aduanera de Eurasia (Federación de Rusia, República de Bielorrusia, República de Kazajistán, República de Armenia y República de Kirguisa).
- UE** Unión Europea (hasta 30 de noviembre de 2009, CE).
- ufc** unidades formadoras de colonias.
- USDA** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (United States Department of Agriculture).
- VQC/SPS** Veterinary Quarantine Clearance/Sanitary and Phytosanitary de Filipinas. Certificados de Importación.
- WTO/OMC** Organización Mundial del Comercio (World Trade Organization).



## Resumen

---



El género *Listeria* pertenece a una familia de bacterias (*Listeriaceae*) compuesta por diecisiete especies de las que, la única con consideración de patógena para el hombre, es *Listeria monocytogenes*. Sus especiales características le confieren una notable resistencia a la acidez, soportando valores de pH bajos, a la escasa disponibilidad de agua, a las altas concentraciones de sal y a las bajas temperaturas debido a su carácter sicrótrofo. Es ubicuitaria estando ampliamente distribuida en el medio ambiente (suelo, plantas y agua).

Provoca la listeriosis que, aunque poco frecuente en comparación con otras zoonosis de transmisión alimentaria, causa un proceso grave con altas tasas de hospitalización y mortalidad. El consumo de alimentos es la principal vía de transmisión a los seres humanos. Entre ellos son los alimentos listos para el consumo (LPC) los más comúnmente contaminados por *Listeria* (productos cárnicos y derivados cárnicos, pescados ahumados, quesos...).

Es muy habitual que la bacteria llegue a los alimentos a través del medio ambiente industrial por su marcada tendencia a permanecer acantonada y protegida formando biofilms. Resulta difícil eliminarla y los operadores alimentarios deben establecer un plan específico de control.

Además de esta principal vertiente sanitaria la presencia de *Listeria* en una industria alimentaria supone una gran limitación para las expectativas comerciales de estas empresas. Esto resulta mucho más evidente en el ámbito de la exportación. Existen distintos países terceros encabezados por los EE. UU., Japón, Canadá, Unión Aduanera Euroasiática (Federación de Rusia, República de Bielorrusia, República de Kazajistán, República de Armenia y República Kirguisa) y Brasil que plantean a los productos españoles exigencias más rigurosas a las vigentes dentro de la Unión Europea frente a la presencia de *L. monocytogenes* en los alimentos. Esto hace que su control resulte fundamental para poder acceder a estos mercados, que además son ejemplos para otros terceros países de su entorno y que suponga una gran traba para los operadores económicos dado que no resulta fácil cumplir unas exigencias que, en ocasiones, son desmedidas. En este aspecto comercial no solo circunscrito a la exportación, sino también a los intercambios intracomunitarios y a los nacionales se fundamenta la segunda vertiente del problema. Por lo tanto, estamos ante un peligro que el operador alimentario debe tener analizado y controlado de la mejor forma posible.

Este trabajo de investigación se ha desarrollado en 35 industrias cárnicas elaboradoras de productos LPC de la región aragonesa con el objetivo general de, a partir de un conocimiento más profundo de sus instalaciones, sus procedimientos y sus sistemas de control mediante la inspección y la auditoría de las mismas, más los datos que han ido aportando los diferentes análisis tanto de superficies como de productos, establecer planes de acción que incluyan medidas de control adecuadas a la problemática detectada y, de este modo, lograr mejorar la seguridad de los productos.

Asimismo, por parte del control oficial de estos establecimientos se ha pretendido demostrar que los planes de vigilancia que mezclan auditoría, inspección y toma de muestras frente a un peligro alimentario concreto buscando la corresponsabilidad del operador e intentando colaborar y aportar soluciones resultan una excelente herramienta para abordar estas situaciones.

El trabajo se desarrolló eligiendo en primer lugar los establecimientos según el riesgo de *Listeria* que sus productos presentaban y también considerando sus necesidades de exportación. Se comenzó con una serie de industrias el primer año y en ejercicios posteriores se fueron añadiendo otras y continuando con los seguimientos que fueran necesarios arrastrados desde el inicio. El primer año cada industria era visitada dos o tres veces.

En la primera visita acordada previamente se efectuaba una supervisión del sistema de autocontrol, una inspección de las instalaciones y una toma de muestras tanto de superficies como de los productos cárnicos listos para el consumo (LPC) que allí se elaboraban. Se trata de tener un conocimiento detallado del riesgo en el establecimiento y tomar muestras en pleno funcionamiento que nos suministren evidencias objetivas.

En la segunda visita se trasladan personalmente las conclusiones de la visita inicial una vez conocidos los resultados del laboratorio. Antes de esta reunión se enviaba el informe por correo con la propuesta de una serie de medidas de control e indicando que preparen un plan de acción que aborde la problemática con su correspondiente calendario de implantación. Durante esta visita se intentaba consensuar el plan con las aportaciones tanto del operador como del control oficial.

En la tercera visita se comprobó la implantación de las medidas de control acordadas y la marcha de todos los compromisos recogidos en el plan de acción. Se supervisaron los resultados del autocontrol de la industria y se realizó una nueva toma de muestras de las superficies y productos que en primera visita no tuvieron resultados satisfactorios y/o de aquellos otros que se consideraban oportunos.

En años siguientes y después de completar el ciclo de tres visitas aquellas industrias que continúen pendientes de la corrección de algunas deficiencias o que no han tenido una evolución satisfactoria se realizaban nuevas visitas de seguimiento con la misma sistemática.

El número de muestras tomadas (productos y superficies) ha sido de 966 y las determinaciones efectuadas 3066. Las determinaciones para los productos cárnicos LPC han sido detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en 25 g y recuento de *L. monocytogenes*; además se determinaron el pH y la actividad agua ( $a_w$ ). La presencia de *Listeria* spp. se investigó como un excelente indicador de la potencial presencia de *L. monocytogenes*, y el recuento de *L. monocytogenes* para comprobar si cumplían la normativa vigente (REGLAMENTO (CE) n° 2073/2005 DE LA COMISIÓN sobre criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, en adelante R. 2073/2005) y si el resultado era inferior a 100 ufc/g valorar las garantías de que no se superaría ese límite durante toda la vida útil del producto. Por otra parte, el pH y la  $a_w$  se establecieron con el objetivo de tener bien caracterizados los productos y juzgar si favorecen o no el crecimiento y desarrollo de *Listeria* como contempla la reglamentación aludida. En cuanto a las muestras de superficies las determinaciones realizadas fueron detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. Los resultados en superficies nos indicaban el peligro real de contaminación por *L. monocytogenes* o bien la amenaza potencial mediante el indicador *Listeria* spp.

Del análisis estadístico de estos resultados se desprenden varias conclusiones que a grandes rasgos son las siguientes:

- Se ha producido una mejoría generalizada en el sistema de control del peligro *L. monocytogenes* que además ha conllevado una mejoría evidente en el sistema de seguridad alimentaria global de la industria. Dicho de otro modo, la actuación ha traído consigo unos valores añadidos muy importantes.
- El porcentaje de muestras que incumplen la normativa comunitaria (R. 2073/2005) es bajo (2,1 %), pero no puede satisfacer las exigencias de los países con tolerancia “cero” frente a *L. monocytogenes* o con exigencias superiores a las de la Unión Europea.
- Existen marcadas diferencias entre los grupos de productos cárnicos que han sido analizados: en el grupo de cocidos se puede intentar conseguir esa perseguida tolerancia “cero”. No parece viable en los picados crudos curados y tenemos que convivir con ella intentando mantenerla controlada en niveles bajos. En el conjunto de los loncheados

los prerequisites son fundamentales y en las salazones, la observación rigurosa de los periodos de curación mínimos.

- También ha quedado claro que los sistemas de seguridad alimentaria deben estar en permanente control y revisión para ir adoptando todas las modificaciones que, con motivo de la aparición de las diferentes debilidades y contingencias, vayan surgiendo. Así, será dinámico y estará adaptado a la realidad de cada momento. En diferentes industrias fue comprobado este extremo al producirse retrocesos y pasos atrás por no tener los controles rigurosos y adaptados.
- Por otra parte, el plan de vigilancia se ha mostrado como una herramienta de enorme valor para el abordaje de esta situación, logrando la aceptación del operador y su corresponsabilidad y estableciendo un proceso de mejora continua.

Por último, decir que tenemos la certeza de que en estas industrias el control del peligro *L. monocytogenes* es hoy más eficaz y que muchas de ellas sirven de motor de arranque y ejemplo para el resto del sector.



## Summary

---



The gender *Listeria* belongs to a family of bacteriums (*Listeriaceae*) composed by seventeen species in which, the only one considered a pathogenic bacterium among men is *Listeria monocytogenes*. Its particular characteristics confers a considerable resistance to acidity, enduring low pH values, to the scarce amount of water available, to high amounts of salt and low temperatures due to its psychrotrophs character. It is ubiquitary, being widely distributed in the environment (soil, plants and water).

Listeriosis is a severe process with high rate of hospitalization and mortality, although its frequency is very seldom in comparison to other zoonoses of food transmission. Food consumption is the main route of transmission to human beings. Among these, ready-to-eat foods (RTE) are the most commonly contaminated by *Listeria* (meat products and alike, smoked fish, cheeses...).

It is very common that this bacterium finds its way into food through the industrial environment because of its strong tendency to remain stationed and protected by creating biofilms. This bacterium is hard to remove and food operators must establish a specific control plan.

Besides this main sanitary aspect, the presence of *Listeria* in the food industry represents a great limitation for these companies' commercial expectations. This is even more obvious in the exportation area. There are different third countries headed by the US, Japan, Canada, Customs Union (Russian Federation, Republic of Belarus, Republic of Kazakhstan, Republic of Armenia and Kyrgyz Republic) and Brazil that put to Spanish products more rigorous requirements than the current ones within the European Union towards the presence of *L. monocytogenes* in food. This makes the control of *Listeria* become fundamental in order to access these markets, which, in addition to this, are examples to other neighboring third countries; and represent a big hindrance to economic operators, given the difficulty in fulfilling requirements that sometimes are disproportionate. The second aspect of this problem is based on this commercial aspect, which is not only circumscribed to export.

But also to intracommunity and national exchanges. Therefore, we face a threat the food operation need to have analysed and controlled in the best possible way. This work has been developed in 35 meat industries that produce food RTE with the general objective of establishing

plans of action that include corrective measures suitable to the identified problem and, thus, being able to improve products safety, taking as a starting points a deeper knowledge of their premises, procedures and control systems by means of the inspection and audit of the aforementioned, together with the data the different analyses both on surfaces and products have already been providing.

Additionally, on the part of the official control of these establishments, there have been attempts to demonstrate that the surveillance plans that blend audit, inspection and sampling before a specific food risk, seeking the operator's responsibility and attempting to cooperate and provide solutions, represent an excellent tool in order to address these situations.

This work was developed by choosing, in first place, establishments according to the risk of *Listeria* on their products and also considering their exportation needs. It started with a series of industries on the first year and some others were added in subsequent years, continuing with the necessary followups carried out from the beginning. Every industry was visited three times in the first year.

A selfcontrol system supervision, an inspection of the premises and sampling of both surfaces and ready-to-eat meat products made there were carried out in the first arranged visit. The objective was to obtain detailed knowledge of their security system and take samples during full operational mode that provide with objective evidences.

Conclusions reached in the first visit, after the laboratory results were in, were personally transmitted in the second visit. Before this meeting, the report was mailed together with the proposal of a series of corrective actions and indications for the preparation of a plan of Action that addresses difficulties, with its corresponding time frame for implementation. There was an attempt to reach an agreement on the aforementioned plan with the contributions of the operator as well as of the official control system during this visit.

Implementation of the agreed corrective measures and progress of all commitments taken into account in the plan of action were checked during the third visit. Results on the industry's selfcontrol were supervised and a new sampling of surfaces and products was performed on those with unsatisfactory outcomes during the first visit or those which were considered appropriate.

All industries that, on the following years and after having completed the three visit cycle, are still pending to correct some deficiencies or have not had a satisfactory evolution will go through new monitoring visits following the same system.

The number of samples taken has been 966 and the parameters made were 3066. Parameters regarding RTE meat products have been *Listeria monocytogenes* in 25 g, *Listeria* spp. in 25 g (other types of *Listeria* different from *L. monocytogenes*). As well; *L. monocytogenes* enumeration, pH and water activity ( $a_w$ ). *Listeria* spp. was requested as an excellent indicator of *L. monocytogenes* potential presence; *L. monocytogenes* recounting to verify if the current law applied (Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs) and, in case the outcome was under 100 cfu/g, estimate the guarantees of keeping this limit throughout the entire product lifetime.

On the other hand, pH and  $a_w$ , aiming at having products well typified and judging if these favor *Listeria*'s growth and development or not, such as the aforementioned law stipulates. As far as surface samples are concerned, the parameters made were absence-presence of *L. monocytogenes* in the sampled surface and absence-presence of *Listeria* spp. in the sampled surface. The results on surfaces showed real danger of contamination by *L. monocytogenes* or potential thread by means of *Listeria* spp. indicator.

We reached several conclusions from the statistical analysis of these results, which are in general the following:

- There is a general improvement in *L. monocytogenes* danger control system that has resulted in a significant improvement in the industry's global food security system. In other words, this performance has led to some very important added values.
- The percentage of samples that do not meet the community's requirements (Regulation 2073/2005) is low (2,1 %), but we cannot satisfy the demands of countries with zero tolerance about *L. monocytogenes* or with higher demands than those of the European Union.
- There are important differences among the groups of meat products that have been analyzed: that pursued zero tolerance is possible to be achieved within the cooked products group, it does not seem feasible within the cured raw chopped group, and we have to live with it trying keeping it controlled at a low level; in the sliced products group prerequisites are fundamental and rigorous observation of the minimum curing periods in salting products.

- It has also become clear that food security systems must be under constant control and revision in order to adopt all modifications that may arise as a result of the appearance of the different weaknesses and contingencies. Thus, it will be dynamic and adapted to the particular nature of each moment. This other side was verified in different industries having occurred relapses and steps back because of a complete lack of thorough and adapted controls.
- On the other hand, the surveillance plan has proved being a very valuable tool for this situation, reaching the operator's approval and responsibility, and establishing an ongoing improvement process.

To conclude suffice it to say that we are certain that the danger control of *Listeria monocytogenes* in these industries is more efficient nowadays and many of them serve as a starting engine and as an example to the rest of the sector.

## Capítulo 1. Introducción y objetivos

---





El género *Listeria* pertenece a una familia de bacterias (*Listeriaceae*) compuesta de diecisiete especies (Leibniz Institute DSMZ, 2017). Una de ellas, *Listeria monocytogenes*, es la especie patógena para el hombre y provoca la listeriosis, enfermedad de seres humanos y, también, de animales. Otra de las especies, *Listeria ivanovii*, es patógena para los animales, especialmente ovino y caprino (Liu, 2006).

Aunque la listeriosis es poco frecuente en comparación con otras zoonosis de transmisión alimentaria, la enfermedad suele ser grave con altas tasas de hospitalización y mortalidad. En su informe sobre las tendencias y las fuentes de las zoonosis, los agentes zoonóticos y los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en 2015, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) concluyeron que el número de casos de listeriosis humana aumentó ligeramente (2 %) respecto a 2014, notificándose 2206 casos confirmados en 2015. Se observó en la Unión Europea una tendencia al aumento estadísticamente significativa durante el periodo 2008-2015, junto con una pauta estacional peculiar, con largos picos durante el verano y más pequeños en invierno. Se incrementó el número de enfermos mayores de 64 años. Este grupo representaba el 56,2 % en 2008 y supone el 64,1 % en 2015. El incremento es todavía más significativo en el grupo de mayores de 84 años. Como en años anteriores, se notificó una alta tasa de hospitalización (97,4 %) y de letalidad (17,7 %). En 2015, diecinueve Estados miembros notificaron 270 muertes debidas a listeriosis, el mayor número nunca registrado (EFSA and ECDC, 2016).

El consumo de alimentos o piensos contaminados es la principal vía de transmisión a los seres humanos y los animales. El agente causal se encuentra ampliamente distribuido en el medio ambiente (suelo, plantas y agua), siendo altamente contaminante en plantas procesadoras de alimentos. Esta bacteria puede ingresar en las plantas de alimentos mediante la tierra proveniente de los zapatos y la vestimenta del personal que trabaja en la fábrica, así como en el transporte utilizado, por medio de animales que excreten la bacteria o tengan la piel contaminada, y mediante vegetales crudos contaminados. Una vez ingresa en la industria puede llegar al producto a través de los manipuladores, las superficies de contacto, los equipos y útiles de contacto o el propio ambiente (Carpentier y Cerf, 2011).

A diferencia de muchas otras bacterias transmitidas por los alimentos, *L. monocytogenes* tiene características únicas y específicas. Tolerancia ambientes ácidos con pH entre 4 y 9,6 (Farber y Peterkin, 2000), concentraciones de sal expresadas en NaCl entre 12 y 16 % y actividades agua entre 0,90 y 0,93 (Gandhi y Chikindas, 2007) y es capaz de multiplicarse a bajas temperaturas entre 2 ° y 4 °C (Junttila y cols., 1988; FAO/OMS, 2004) por lo que se considera un microorganismo microtrofo. Esta capacidad le permite mantener la viabilidad en los alimentos que se conservan a temperaturas correctas de refrigeración y hace que sea un problema importante en la producción de alimentos. La resistencia de esta bacteria, junto con las altas tasas de mortalidad en los seres humanos, hace que el manejo de alimentos seguros sea de suma importancia para garantizar la salud pública.

En las personas infectadas, los síntomas varían desde síntomas gripales leves, tales como náuseas, vómitos y diarrea, a infecciones más graves, como la meningitis y otras complicaciones potencialmente mortales. Las personas que son más susceptibles de padecer listeriosis son las mujeres embarazadas, los lactantes y las personas con sistemas inmunitarios debilitados, como los recién nacidos o personas de edad avanzada. *L. monocytogenes* se puede encontrar en muchos alimentos, como el pescado ahumado, carnes y derivados cárnicos, quesos y verduras crudas. Los alimentos más problemáticos son los listos para el consumo (LPC) (FAO/OMS, 2004). La bacteria puede llegar a estos alimentos a través del medio ambiente industrial (Reij y Den Aantrekker, 2004).

Las industrias cárnicas elaboradoras de productos cárnicos LPC deben establecer un plan específico de control de *L. monocytogenes* (Henning y Cutter, 2001). Este plan contempla las buenas prácticas de fabricación, prácticas de higiene y el control efectivo de la temperatura en toda la cadena de producción alimentaria, incluyendo la distribución y el almacenamiento de alimentos. Resulta crucial controlar la contaminación por *L. monocytogenes*, así como su crecimiento en el producto hasta el final de su vida útil.

Existen numerosos métodos convencionales validados para el recuento y detección de *L. monocytogenes*, aunque los procedimientos generales de elección utilizados son las normas ISO 11290 (partes 1 y 2) (UNE-EN-ISO 11290-1: 1997/A1, 2005; UNE-EN-ISO 11290-2: 2000/A1, 2005). El recuento se realiza en agar ALOA y un segundo medio selectivo como el agar RLM (Rapid *L. mono* agar), previa homogeneización en caldo Fraser a media concentración. La detección contempla enriquecimiento primario en caldo Fraser a media concentración,

enriquecimiento secundario en Fraser concentración normal y aislamiento en los agares señalados. La confirmación bioquímica mediante azúcares (dextrosa, esculina, maltosa, ramnosa, manitol y D-xilosa) y hemólisis, e identificación final con API *Listeria*. Posteriormente también se han usado como métodos alternativos ALOA OneDay para investigación o detección de *L. monocytogenes* y el ALOA Count para el recuento. Todas estas técnicas están acreditadas en el Laboratorio de Salud Pública de Aragón por la ENAC (Entidad Nacional de Acreditación), cuya última revisión fue el 16/03/2016 con nº de expediente 27359. Para las industrias autorizadas para exportar a los EE. UU. el método usado es el BAX, se trata de una técnica PCR que es la recomendada por la administración estadounidense (USDA-FSIS, 2017) y que se ha puesto a punto en nuestro laboratorio.

Debemos señalar la relevancia que para la economía española supone la industria cárnica. El subsector más importante de la industria de alimentación y bebidas es la industria cárnica (21 %). El porcino es el principal sector ganadero de España, con un comportamiento netamente exportador. En 2015 se exportaron 171 390 t de productos cárnicos con un incremento del 15,7 % sobre 2014. La tasa de cobertura de las industrias del sector cárnico español es del 450 % y esto supone que para mantener los niveles de negocio actuales hay que recurrir al comercio exterior, dado que la demanda interna es insuficiente.

España es el 4.º productor europeo de productos cárnicos, por detrás de Alemania, Francia e Italia. La primera partida en volumen son los embutidos cocidos (31 %), a continuación los jamones y paletas curadas (20,3 %), los embutidos curados (14,8 %) y los productos adobados (14 %). Después los jamones y paletas cocidos (13,2 %) y los platos preparados cárnicos (6,7 %) (MERCASA, 2016).

En Aragón el porcino representa el 60 % de la producción final ganadera (PFG). El primer subsector alimentario es el cárnico, con 138 industrias y el 56 % de las exportaciones alimentarias en 2015. La internacionalización de las industrias cárnicas aragonesas es superior a la media española. Los datos reflejan la competitividad de nuestra industria y su creciente diversificación, tanto en destinos como en productos.

Realizadas estas consideraciones, se constata que además de su vertiente sanitaria, el control de *L. monocytogenes* presenta un componente comercial de la máxima importancia, ya que terceros países, destinos habituales de nuestras exportaciones de productos cárnicos, exigen políticas de tolerancia “cero”, más rigurosas que las requeridas en la Unión Europea y difíciles de alcanzar. Entre estos países con política de tolerancia “cero” están los EE. UU. (Code of Federal Regulations,

CFR, Title 9, 2015), la Unión Aduanera de Eurasia (Federación de Rusia, República de Bielorrusia, República de Kazajistán, República de Armenia y República Kirguisa) (Resolución 68 (TR, TS 34/2013) UA) o Japón (Exportación a Japón, 2016), si bien este último país ha flexibilizado el criterio recientemente con una tolerancia de menos de 100 ufc/g en determinadas circunstancias (MSSSI, 2015).

## Objetivos

El presente trabajo de investigación, considerando la gran importancia que para las industrias cárnicas supone tener un buen sistema de control de *Listeria*, persigue como primer objetivo conocer las debilidades de los mismos y contribuir a la implantación de unas adecuadas medidas de control, así como a la mejora de dichos sistemas. Adicionalmente, se pretende juzgar la efectividad de estas medidas para que pueda ser un modelo trasladable a otras industrias.

El segundo objetivo, dirigido al control oficial de las industrias alimentarias es realzar los planes de vigilancia frente a un peligro concreto, en este caso la presencia en los productos cárnicos LPC de *L. monocytogenes*, como medio eficaz para abordarlo combinando la inspección, la auditoría y la toma de muestras frente a la utilización independiente que viene siendo habitual. Se pretende evidenciar que los planes de vigilancia constituyen una herramienta eficaz, que han producido claras mejoras y que pueden ser un modelo a seguir para la caracterización de otros peligros microbiológicos.

Según lo expuesto, los **Objetivos Generales** son dos:

- Mejorar el control de *L. monocytogenes* en las industrias seleccionadas y valorar las medidas de control que la han hecho posible.
- Demostrar la eficacia de los planes de vigilancia para el control oficial.

A partir de un importante número de muestras (966), de superficies (588) y de producto cárnico LPC (378), analizadas desde el año 2010 al 2014 en 35 industrias cárnicas, se han obtenido resultados que han dado lugar a considerar la necesidad de implantar planes de acción para el control de *Listeria* en la mayoría de ellas. Estos planes de acción incluyen diversas medidas de control que en visitas posteriores se verificaron tanto en lo referente a su implantación como en

sus resultados, mediante observación directa, revisión de registros y nuevas tomas de muestras de superficies y producto terminado. En la mayoría de las empresas se realizaron tres visitas.

A partir de este conjunto de resultados, se efectúa una valoración global sobre la eficacia de la implantación de estos planes de acción para el control de *Listeria* mediante la realización de su análisis pormenorizado, su representación gráfica y el estudio de la tendencia de mejora llevada a cabo en cada industria relacionándola con las medidas de control tomadas.

Estas conclusiones permitirán emitir recomendaciones para las industrias cárnicas y servir de apoyo para la elaboración de planes de control de *L. monocytogenes*.

Como **Objetivo específico** se plantea conocer qué medidas de control resultan más eficaces para cada uno de los grupos de productos cárnicos estudiados que son los siguientes:

- Picados crudos curados.
- Cocidos.
- Salazones.
- Loncheados.
- Platos preparados cárnicos.

En líneas generales, la metodología seguida ha sido la siguiente:

## 1. Selección de industrias cárnicas

Para su selección se han tenido en cuenta los siguientes criterios:

- Autorizadas o en vías de autorización para exportar a Japón, Estados Unidos de América, Canadá, Brasil, Unión Aduanera de Eurasia o algún país tercero que exija criterios microbiológicos frente a *L. monocytogenes* diferentes a los exigidos por la normativa comunitaria (R. 2073/2005 sobre criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios).
- Categorización del riesgo de la industria con preferencia por las consideradas de mayor riesgo.

## 2. Visita inicial de supervisión y toma de muestras

Esta visita se lleva a cabo en fecha pactada con el establecimiento y notificada por escrito con la suficiente antelación. Efectuando las siguientes operaciones:

A) Supervisión del sistema de autocontrol y su implantación, especialmente en lo relativo a:

- Descripción de los productos implicados con especial consideración para las características fisicoquímicas (pH,  $a_w$ , sal, aditivos), tipo de envasado, vida útil determinada, estudios de vida útil, etiquetado, indicaciones de modo de empleo, uso esperado y población diana.
- Procedimientos de limpieza y desinfección.
- Procedimientos de higiene previos y durante las operaciones.
- Programa normalizado de control de la higiene (PNCH).
- Procedimientos de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) en relación con los controles establecidos en el mismo frente al peligro *L. monocytogenes*, especialmente cuando exista un tratamiento de letalidad para la bacteria.
- Supervisión de todas las analíticas disponibles en el establecimiento sobre *Listeria* tanto en materias primas, producto terminado, superficies o medio ambiente.

Para la realización de esta supervisión se elaboró y utilizó el formulario “plan de vigilancia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos listos para el consumo”.

B) Toma de muestras de superficies:

- Se tomaron muestras de superficies y/o agua de condensación o encharcamientos (entre 5 y 15 por establecimiento).
- Teniendo en cuenta que *L. monocytogenes* llega a los alimentos preferentemente a través de contacto con superficies, manipuladores o ambiente, las superficies a muestrear han sido aquellas que se consideró podían aportar esa contaminación, especialmente cuando el alimento no va a recibir ningún tratamiento adicional y previamente al envasado.
- Las muestras se tomaron durante el proceso de elaboración (muestras operativas).

C) Toma de muestras de producto cárnico LPC:

- Se tomaron muestras de todos los productos LPC terminados que elaboraba cada una de las industrias (una muestra por cada producto diferente).

- Tomar un envase cerrado de la cámara o almacén de producto terminado comprobando su integridad y etiquetado correcto.
- Identificar el producto mediante un número o bien con etiqueta autoadhesiva. La descripción y características del producto (refrigeración, congelación, conservación al vacío, vida útil u otros datos de interés) figurarán detalladamente en el acta de inspección en la que se refleje la toma de muestras.
- Introducir el producto en la nevera portátil refrigerada cerrándola de inmediato.

D) Transporte al laboratorio:

Las muestras se trasladaron al laboratorio de salud pública del gobierno de Aragón lo antes posible (manteniendo la cadena del frío a 4°C).

### **Determinaciones en laboratorio**

En superficies y/o agua de condensación o encharcamiento:

- Detección de *Listeria* spp. y de *L. monocytogenes* en superficies muestreadas.

En producto cárnico LPC:

- Detección de *Listeria* spp. en 25 g.
- Recuento y detección de *L. monocytogenes* en 25 g.
- Actividad agua ( $a_w$ ).
- pH.

Para la detección y recuento de *L. monocytogenes* se siguió la metodología UNE-EN-ISO 11290-1 y la UNE-EN-ISO 11290-2. La determinación de la actividad agua ( $a_w$ ) el equipo AQUALAB expresando la media de tres mediciones y para el pH el analizador CRISON.

### **Inicio de los análisis**

Para las superficies y las aguas comenzaron en un plazo máximo de 24 horas desde la realización de la toma de muestras.

En el caso de los productos cárnicos LPC se abordaron dentro de la vida útil del producto manteniendo las condiciones de conservación presentes en el etiquetado y nunca en un plazo superior a las 48 horas desde la toma de muestras.

### 3. Traslado de las conclusiones de la visita inicial (2.<sup>a</sup> visita)

El informe de la supervisión se emitió cuando se dispuso de los resultados analíticos actuando del siguiente modo:

1.º) Se envió por correo adjuntando los resultados y proponiendo medidas de control. Posteriormente se presentó y examinó personalmente en la segunda visita.

2.º) Se les indicó que preparasen un plan de acción con las medidas de control finalmente acordadas y su calendario de implantación.

Se recomendó, entre otras, la adopción de las medidas de control siguientes:

1. La incorporación de *L. monocytogenes* como peligro específico en el plan de autocontrol.
2. Incluir procedimientos de limpieza y desinfección específicos para *L. monocytogenes*, contemplar acciones para prevenir biofilms, biociclos con principios activos y su rotación, protocolizar la separación de las piezas de equipos, mantenimiento de equipos, etc.
3. La necesidad de introducir medidas preventivas o de control que podrán estar en el APPCC (en forma de PCC si es necesario), en el PNCH (en caso de tenerlo desarrollado), o de prerrequisitos (PPR). En todo caso se justificarán sus mecanismos de control, que podrán incluir lo indicado en el punto siguiente.
4. Necesidad de tener establecido una verificación de *L. monocytogenes* en superficies, indicando:
  - a. Frecuencia de los muestreos.
  - b. Lugares y tamaño de las superficies a muestrear.
  - c. Explicación de por qué es suficiente este plan de muestreo.
5. La verificación de *L. monocytogenes* en producto final.



6. Determinación de las acciones a realizar ante resultados desfavorables de presencia de *L. monocytogenes* en valores superiores a los establecidos, tanto para controles de superficies como en producto, referidas, entre otros, a:
  - a. Medidas para restaurar la normalidad.
  - b. Actuaciones sobre el producto posiblemente afectado.
  - c. Acciones para evitar que el problema vuelva a repetirse y, en su caso,
  - d. Revisión del APPCC o PNCH.
7. Estudios del cumplimiento de los criterios del R. 2073/2005 a lo largo de la vida útil del producto, según lo establecido en el anexo II de dicho reglamento.

#### **4. Visita de seguimiento de las medidas de control y toma de muestras (3.ª visita)**

Esta visita ha tenido de nuevo dos partes fundamentales:

##### **Supervisión**

- Comprobación de la implantación de las medidas según lo acordado en la segunda visita, en su caso, y lo indicado en el plan de acción, supervisando el calendario.
- Supervisión de los resultados analíticos del establecimiento.

##### **Toma de muestras**

- Con la misma sistemática que la indicada en la primera toma de muestras, incidiendo particularmente en los tipos de muestras positivas a *Listeria*. Se redujo el número de muestras en el caso de establecimientos con resultados de auditoría y de muestreo favorables.
- En los establecimientos que después de completar el ciclo anual de visitas continuaban pendientes de corrección de algunas deficiencias, se realizó un seguimiento al año siguiente verificando el control de *L. monocytogenes* mediante nuevas tomas de muestras de superficies y producto LPC y actuando del mismo modo que en la visita inicial.

Finalmente y como objetivos de este trabajo se verificó la eficacia de las medidas tomadas con carácter general en el conjunto de industrias y también en los distintos grupos de productos cárnicos establecidos.



## **Capítulo 2. Revisión bibliográfica**

---



## 2.1. Listeria

### 2.1.1. Taxonomía del género *Listeria*

*Listeria monocytogenes* fue descrita por primera vez en 1926 y su nombre se dedicó al cirujano inglés Lord Lister, pionero de la antisepsia.

Desde 1940, la denominación actual de *L. monocytogenes* aparece en la “Approved List of Bacterial names”. Posteriormente en los años 60 se describen las especies *Listeria grayi* y *Listeria murrayi*.

A partir de 1973 y especialmente desde 1983, con los estudios de hibridación de ADN y del ARNr 16S, se comprueba que es un grupo muy heterogéneo de 66 cepas agrupadas bajo la denominación de *L. monocytogenes sensu lato* y se comprueban cinco genomovares (o genomoespecies): la genomoespecie 1 es *L. monocytogenes sensu stricto*; la genomoespecie 2 se corresponde con *Listeria ivanovii* y sus subespecies *L. ivanovii* subsp. *ivanovii* y *L. ivanovii* subsp. *londoniensis*, la genomoespecie 3 atañe a *Listeria innocua* y las genomoespecies 4 a *Listeria welshimeri* y la 5 a *Listeria seeligeri* (Euzéby, 2011).

Posteriormente la Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7,7. (TOBA 7,7.) en marzo de 2007 encuadra a *Listeria* en la parte 9: Domain: *Bacteria*; Phylum: *Firmicutes*; Class: *Bacilli* (or *Firmibacteria*); Order: *Bacillales*; Family: *Listeriaceae*. En 2005 había sido propuesta la familia *Listeriaceae* en el de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology; sin embargo, esta nomenclatura no pudo ser válidamente publicada porque no se formuló ninguna descripción de la familia.

En 2009, Ludwig y cols. (2009) aportan una breve descripción de la familia que figura en el volumen 3 de la segunda edición del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Se trata de una reseña coherente con las normas del Código de Nomenclatura y en 2010 la nomenclatura de *Listeriaceae* es válidamente publicada e inscrita en la lista de validación nº 132 del IJSEM (Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2010, 60, 469-472) (Euzéby, 2010). Esta familia comprende los géneros *Brochothrix* y *Listeria* (Garrity y cols., 2007).

Dentro del género *Listeria* y según el *Internacional Journal of Systematic Bacteriology* (IJSB) y el *Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM) se encuentran las siguientes especies:

Tabla 1. Especies del género *Listeria*

---

<i>Listeria aquatica</i>
<i>Listeria booriae</i>
<i>Listeria cornellensis</i>
<i>Listeria fleischmannii</i> (y sus subsp. <i>coloradonensis</i> y <i>fleischmannii</i> )
<i>Listeria floridensis</i>
<i>Listeria grandensis</i>
<i>Listeria grayi</i>
<i>Listeria innocua</i>
<i>Listeria ivanovii</i> (y sus subsp. <i>ivanovii</i> y <i>londoniensis</i> )
<i>Listeria marthii</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Listeria newyorkensis</i>
<i>Listeria riparia</i>
<i>Listeria rocourtiae</i>
<i>Listeria seeligeri</i>
<i>Listeria weihenstephanensis</i>
<i>Listeria welshimeri</i>

---

La especie *Listeria murrayi* se comprobó en 1992 que era sinónimo heterotípico de *L. grayi* y la especie *Listeria denitrificans* ha sido transferida al género *Jonesia*. En total en este momento (junio 2017) en el género *Listeria* se reconocen 17 especies y 4 subespecies (IJSEM Online 2017; Leibniz, 2017).

También debe tenerse en cuenta que las cinco nuevas especies descritas en el año 2014 (*L. aquatica*, *L. cornellensis*, *L. floridensis*, *L. grandensis* y *L. riparia*) proceden del medio ambiente agrícola de dos estados norteamericanos (Florida y Colorado), concretamente se han aislado en agua fresca. Se han descrito secuenciando completamente su genoma y no podría haberse hecho mediante los métodos tradicionales. Los datos genotípicos y fenotípicos sugieren que estas nuevas especies no

son patógenas. En cambio las dos descritas en 2015 (*L. booriae* y *L. newyorkensis*) proceden del medio ambiente industrial (IJSEM Online, 2017. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature).

De todas las especies citadas, la especie tipo *Listeria monocytogenes* es patógena para el hombre y los animales y *Listeria ivanovii* únicamente para los animales, especialmente ovino y caprino (Liu, 2006). Debe comentarse que se ha registrado algún caso de listeriosis humana causada por *L. ivanovii*, en Francia. Tuvo lugar un caso que afectó a un hombre con trasplante renal (Guillet y cols., 2010).

En la Tabla 2 se muestran las características bioquímicas de *L. monocytogenes* y de *L. innocua* (utilizada como indicador de la especie patógena) (Seeliger y Jones, 1986; Graves y cols., 2010; Leclercq y cols., 2010).

Tabla 2. Propiedades bioquímicas de *Listeria monocytogenes* y de *Listeria innocua*

Característica	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>
β-Hemólisis	+	-
Reacción CAMP		
<i>S. aureus</i>	+	-
<i>R. equi</i>	-	-
Arylamidasa	-	+
PIPLC	+	-
α-Manosidasa	+	+
Fermentación de:		
Manitol	-	-
D-Arabitol	+	+
D-Xilosa	-	-
Ramnosa	+	v
Metil α-D-glucósido	+	+
Ribosa	-	-
Glucosa-1-fosfato	-	-
D-Tagatosa	-	-

+: reacción positiva; -: reacción negativa; v: reacción variable

PIPLC: fosfatidilinositol fosfolipasa C

*S. aureus* (ATCC 49444 o 25923); *R. equi* (ATCC6939, NCTC1621)

### 2.1.2. Características de *Listeria monocytogenes*

*L. monocytogenes* es un microorganismo grampositivo con forma de bacilo corto, de 0,4 a 0,5  $\mu\text{m}$  de diámetro y 0,5 a 2  $\mu\text{m}$  de longitud, no formador de esporas. Se puede presentar formando cadenas cortas, así como en forma de V, Y o en empalizadas. Presenta una respuesta positiva para las pruebas catalasa, Voges-Proskauer, rojo metilo, hidrólisis de la esculina, fermentación de la glucosa con producción de ácido láctico, acidifica la L-ramnosa,  $\alpha$ -metil-D-manosido, trealosa, lactosa, amigdalina, celobiosa, fructosa, manosa y salicina.

Una lectura negativa se obtiene para los test oxidasa, citrato de Simmons, indol, urea, gelatinasa, APP, LDC, ODC y ADH. No suelen acidificar el manitol, ribosa, D-xilosa, adonitol, arabinosa, dulcitol, eritritol, inositol, melibiosa, rafinosa y sorbosa.

El porcentaje guanina + citosina está comprendido entre 37-39 %, el peptidoglicano es del tipo A1y, la pared celular contiene ácidos teicoicos y lipoteicoicos y no presenta ácidos micólicos (Euzéby, 2011).

Sobre un agar con 5 % de sangre (de oveja, caballo, conejo o humano) las colonias de *L. monocytogenes* presentan  $\beta$ -hemólisis muy suaves. Hay que tener cuidado con la sangre de oveja ya que puede contener anticuerpos anti-*Listeria*, de ahí que sea preferible investigar la hemólisis utilizando glóbulos rojos lavados. La hemólisis puede ser reforzada utilizando la prueba de CAMP (Christie Atkins Munch-Petersen), en la que *L. monocytogenes* da lectura positiva frente a *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* y negativa frente a *Rhodococcus equi*.

Puede crecer en aerobiosis y anaerobiosis, pero presenta preferencia por ambientes microaerofílicos. Crece en un rango de temperaturas muy amplio que comprende entre 1 °C y 45 °C (Junttila y cols., 1988) por lo que se considera un patógeno alimentario sicrotrofo, aunque su temperatura óptima de crecimiento oscila entre 30 °C y 37 °C. Presenta un crecimiento en paraguas en agar movilidad tras incubación a 25 °C. En cultivo en estado fresco presenta una movilidad característica denominada en “pirueta” o “barrilete”. La ciliatura es de tipo peritrico presentando entre 1 y 5 flagelos. Es una bacteria ácido tolerante que puede crecer en una amplitud de pH entre 4,4 y 9,6, siendo el óptimo pH = 7. Además es capaz de crecer a una actividad de agua de 0,90, pudiendo sobrevivir en salmuera comercial empleada en la elaboración de quesos con una concentración de NaCl de 23,8 % almacenada a 4 °C durante 259 días (Miller, 1992; Larson y cols., 1999).



### 2.1.3. Serovariedades

*Listeria monocytogenes* incluye 13 serovariedades: 1/2a; 1/2b; 1/2c; 3a; 3b; 3c; 4a; 4b; 4c; 4d; 4e; 4ab y 7. De todas estas serovariedades 3 de ellas están presentes entre el 89 y el 96 % de las listeriosis humanas lo que indica que son más aptas para causar enfermedad (Farber y Peterkin, 2000) y se corresponden con las serovariedades 1/2a; 1/2b y 4b. Las dos primeras han sido aisladas en brotes de listeriosis humana asociada al consumo de alimentos en Europa, mientras que la serovariedad 4b ha sido predominante en los brotes de Canadá y EE. UU. (Ray y Bhunia, 2014).

*Listeria monocytogenes* se agrupa en cuatro linajes (I, II, III, IV) por similitudes genotípicas y fenotípicas. El linaje I incluye los clones epidémicos responsables de brotes con alta capacidad patogénica (serovariedades 1/2a, 1/2c, y 3c). En el linaje II se incluyen los clones con una capacidad patogénica media (serovariedades 1/2b, 3b y 4b). En el linaje III se agrupan los clones que difícilmente causan enfermedad en humanos, pero si pueden hacerlo en animales teniendo baja capacidad patogénica (serovariedades 4a y 4c).

A partir de 2005 las antiguas 13 serovariedades han sido reemplazadas y ubicadas en cinco genosero grupos mediante el uso de PCR multiplex:

Ila (serovariedades 1/2a o 3a).

Ilb (serovariedades 1/2b, 3b o 7).

Ilc (serovariedades 1/2c o 3c).

IVb (serovariedades 4b, 4d o 4e).

L (serovariedades 4ab, 4c o 7).

Nuevo IVb-v1 (serovariedad 4bZ) (Leclercq y cols., 2011; CNRL, 2011).

En cuanto a los genosero grupos IVb, Ila y Ilb, por este orden, son los responsables de las listeriosis humanas.

El genosero grupo IVb es el más incriminado en la listeriosis humanas y también en las cepas aisladas procedentes de productos cárnicos y de las superficies de las industrias. Asimismo los estudios señalan estas cepas como las más virulentas.

#### 2.1.4. Ecología

*Listeria monocytogenes* es un microorganismo que se encuentra en el entorno ambiental adoptando un ciclo saprofítico en estrecha relación con el suelo (Herrera y Yangüela, 1991). Es muy ubicua, ampliamente distribuida en el medio ambiente, aguas residuales, suelos, heces de animales, ensilados, agua y también en las heces de las personas sanas (cerca del 5 % de la población normal es portadora). Se trata de un patógeno oportunista, capaz de sobrevivir y multiplicarse fuera de los hospedadores animales y en medios nutritivos muy simples. Su hábitat idóneo son sustratos fríos y húmedos.

El suelo es el nicho medioambiental sobre el que pivota la importancia de la transmisión de esta bacteria a plantas y animales y manifiesta habilidad para adaptarse y protegerse (Vivant y cols., 2013). Existen una serie de factores extrínsecos como son la composición del suelo (textura, pH, temperatura, disponibilidad de agua), las comunidades microbianas que lo habitan, la microfauna tanto doméstica como salvaje, los factores meteorológicos, las prácticas agrícolas (fundamentalmente riegos y abonos). Además deben considerarse una serie de factores intrínsecos que en el caso de *L. monocytogenes* son un extenso repertorio de genes encargados del transporte de proteínas y reguladores. Asimismo los plásmidos juegan un papel importante en su supervivencia en el suelo y en los procesados alimentarios en las industrias (den BaKer y cols., 2012). Un número importante de elementos genéticos móviles están involucrados en la resistencia de *L. monocytogenes* en superficies metálicas y en fenómenos de estrés oxidativo encontrándose plásmidos aislados y representativos del género *Listeria* (Kuenne y cols., 2010). Todavía el papel de los plásmidos en la ecología de *L. monocytogenes* no está bien estudiado, pero sin duda con los datos conocidos se le otorga un papel relevante. Ambos tipos de factores marcan y dirigen la pervivencia de *L. monocytogenes* en el medio ambiente y le conceden la calificación de “bacteria ambiental” adaptada y de difícil control.

A partir del forraje, el suelo y las heces de los animales *L. monocytogenes* pasa a los alimentos y de ahí a los humanos. Debido a su persistencia, existe una constante reintroducción en las plantas de fabricación de alimentos.

Cualquier alimento fresco de origen animal o vegetal puede presentar *L. monocytogenes* y esto hace que sea bastante complicado evitar su entrada en las industrias alimentarias a través de las materias primas. Ha sido detectada en leche fresca, quesos frescos, carne fresca, carne

congelada, carnes de aves, productos de la pesca y frutas y hortalizas (Jay y cols., 2005). Además también sabemos que es capaz de crecer hasta concentraciones de  $10^4$  - $10^6$  ufc/g en muchos alimentos LPC mantenidos en refrigeración como el salmón ahumado o los productos cárnicos loncheados (Gombas y cols., 2003; Farber y cols., 2007; Jinneman y cols., 2007) e incluso alcanzar concentraciones mayores en quesos blandos (Norton y Braden, 2007).

## 2.2. Listeriosis por consumo de alimentos

El Codex Alimentarius identifica cinco factores, que son los contribuyentes principales al incremento del riesgo de listeriosis relacionada con el consumo de alimentos LPC (Codex Alimentarius —en adelante Codex—):

- Cantidad y frecuencia del consumo de un alimento.
- Frecuencia y grado de contaminación de un alimento con *L. monocytogenes*.
- Capacidad del alimento de favorecer la proliferación de *L. monocytogenes*.
- Temperatura de almacenamiento de los alimentos en refrigeración.
- Temperatura de almacenamiento de los alimentos en congelación.

También debe tenerse en cuenta el número de organismos de *Listeria monocytogenes* en el alimento en el momento del consumo y la susceptibilidad de la persona, es decir, si pertenece a algún grupo de riesgo. Este último factor es de gran importancia para determinar la probabilidad de contraer la enfermedad (Codex, 2007).

En las industrias alimentarias *Listeria* puede llegar al alimento por la propia materia prima, por superficies o equipos de contacto directo, a través de los manipuladores o también indirectamente por partículas suspendidas en el medio ambiente o bien a partir de salpicaduras y condensaciones que caigan sobre los productos.

En cuanto a las superficies de contacto directo surge la figura de los biofilms desempeñando un papel importantísimo en esa posible contaminación. Biofilm se define como una comunidad sésil de microorganismos en la que sus células se asocian irreversiblemente a una superficie incrustada en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) segregada por las propias bacterias. Se trata de una respuesta adaptativa de los microorganismos para aumentar

sus posibilidades de supervivencia en el medio ambiente. Esto supone la aparición de un nuevo concepto de “bacteria” como organismo unicelular capaz de formar estructuras complejas con interrelaciones entre sus individuos que están muy próximas al comportamiento de los organismos pluricelulares (AESAN, 2010). El proceso de adhesión depende de la especie bacteriana, de los factores ambientales y de la composición de las superficies. Este proceso consta de dos fases una inicial que es reversible y otra final irreversible donde se produce el anclaje o bloqueo. Esto hace que sea muy importante una intervención rápida de limpieza y desinfección cuando se produce la contaminación porque los mecanismos protectores de las bacterias aumentan con el tiempo (Frank, 2001). En definitiva, su eliminación constituye un reto del plan limpieza y desinfección y es conveniente verificar que se ha conseguido con diversos métodos [detección de ATP (trifosfato de adenosina), pruebas de peroxidasa y tinción para evidenciar la presencia de células viables].

Tenemos que tener en cuenta que las condiciones ambientales de una planta de procesado y almacenamiento pueden favorecer la adaptación y resistencia del patógeno favoreciendo su desarrollo en estos medios (Bover y Garriga, 2014).

El control de la proliferación del patógeno puede lograrse mediante diversas estrategias.

- Estableciendo barreras a la propagación de *Listeria*, mediante el descenso de la actividad agua ( $a_w$ ), el pH o la reformulación del alimento con inhibidores del crecimiento o favorecedores de la fermentación para conseguir una mayor cantidad de flora acidoláctica que compite e inhibe el desarrollo de *L. monocytogenes*.
- Controlando la temperatura de manera que los alimentos LPC nunca superen los 6°C (preferentemente de 2° a 4°C).
- Reducción de la vida útil del producto en refrigeración con el fin de garantizar que su crecimiento no sea significativo antes de su consumo (Codex, 2007).
- Establecimiento de fases listericidas previas y/o posteriores al envasado.

Es muy importante el estudio de la prevalencia de *L. monocytogenes* en los alimentos LPC, ya que una vez que llega al alimento es posible que se multiplique compitiendo con la microbiota instaurada en él, incluso en temperaturas de refrigeración (Herrera y Yangüela, 1991). Es más la refrigeración puede actuar de barrera frente a muchas bacterias que son competencia habitual de

*Listeria*, y favorecer un ambiente propicio por su carácter sicrotrofo y la ausencia de competidores para su desarrollo.

A modo de orientación y atendiendo a los datos epidemiológicos y de control oficial disponibles se propone esta clasificación de establecimientos elaboradores de alimentos LPC según el riesgo de *Listeria monocytogenes*:

1. Elaboradores de charcutería y quesos loncheados.
2. Elaboradores de productos de la pesca ahumados.
3. Elaboradores de productos cárnicos cocidos.
4. Elaboradores de quesos blandos y otros productos lácteos.
5. Reenvasadores.
6. Elaboradores de ensaladas preparadas.
7. Elaboradores de charcutería y quesos en piezas.
8. Elaboradores de platos preparados cárnicos.
9. Elaboradores de productos cárnicos fermentados.
10. Elaboradores de productos cárnicos deshidratados.
11. Elaboradores de salazones.
12. Elaboradores de platos preparados congelados.
13. Elaboradores de platos preparados refrigerados.

En nuestro trabajo nos vamos a referir a los productos cárnicos LPC y vamos a dividirlos en cinco grupos.

- Productos cárnicos picados crudos curados.
- Productos cárnicos cocidos.
- Productos cárnicos salazones.
- Productos cárnicos loncheados.
- Platos preparados cárnicos.

Se han publicado múltiples estudios de prevalencia de *L. monocytogenes* en estos grupos. Citaremos algunos que podremos comparar con nuestros propios resultados:

- Incidencia de *L. monocytogenes* que osciló entre el 1,7 y el 10,8 % el primer año y entre el 0,9 y el 8,7 % el segundo año en productos cárnicos LPC en general (Williams y cols. 2008, 2009, 2011).
- Incidencia de *L. monocytogenes* del 0,8 % en jamón cocido y 6,2 % en salami (Martins y Leal 2011).
- Jamón fileteado con incidencia del 5,7 % de *L. monocytogenes* (FSIS-USDA, 1999).
- Productos cárnicos cocidos con 4,9 % integros y 6,7 % fileteados (Uyttendaele y cols. 1999).
- Productos cárnicos, LPC en la UE en 2015 con 2'5 % (EFSA-ECDC, 2016).

Hemos analizado el peligro *L. monocytogenes* en los productos cárnicos LPC, los cuáles son las vías para que esta bacteria, muy ligada al ambiente de las industrias alimentarias, llegue a nuestros productos, cuáles son las principales estrategias y medidas de control para disminuir o eliminar el riesgo, cuáles son los principales alimentos afectados y qué niveles de incidencia se están encontrando. A través de nuestro trabajo tratamos de conseguir que este peligro esté mucho mejor controlado a través de todas las medidas que los operadores disponen y así, facilitar el cumplimiento del R. 2073/2005 vigente en la Unión Europea y también conseguir que puedan competir en mercados con mayores exigencias. El límite que durante toda la vida útil exige nuestra normativa es como máximo de 100 ufc/g y se deben procurar garantías de ello. Si nuestras industrias producen alimentos seguros y el consumidor los manipula y conserva adecuadamente en su domicilio estaremos reduciendo muy notablemente el riesgo de listeriosis por consumo de alimentos.

### 2.3. Patogenia

La patogenicidad de *Listeria monocytogenes* depende, en gran parte, de la cepa. Algunas son muy virulentas, otras poco o muy poco y, en algunos casos raros no manifiestan virulencia alguna. Se considera que todas las cepas de *L. monocytogenes* son potencialmente patógenas para la especie humana. No hay relación con la serovariedad, fagovariedad o ribovariedad (modelo de

macrorrestricción del ADN) ni tampoco con si la cepa procede de enfermos aislados, de un brote, de animales, de alimentos o del ambiente (Bille, 1990).

En el caso que nos ocupa, las listerias ingresarían en el organismo con los alimentos y pueden sobrevivir en el entorno gástrico, colonizar el intestino y cruzar la barrera intestinal, la hematoencefálica y la maternofetal. Ha desarrollado mecanismos sofisticados que le permiten invadir y sobrevivir en una amplia variedad de células, incluso en las que normalmente no son fagocíticas, como células epiteliales y endoteliales y hepatocitos (Portnoy, 2007; Cossart y Toledo-Arana, 2008).

El estudio de su actividad hemolítica, clásicamente considerada un factor de virulencia de las cepas patógenas, y también aspecto básico para su identificación en el laboratorio permitió la identificación del gen cromosómico responsable de dicha actividad (*hly*) y de su papel para evitar la destrucción de *Listeria* en el interior de los fagosomas, así como su proliferación intracelular (López y cols., 2006).

Entre esos factores de virulencia se encuentran las proteínas de superficie internalinas (InlA, InlB). Estas favorecen la invasión celular por un mecanismo tipo *zipper*, que hace que las bacterias vayan hundiéndose progresivamente en la superficie celular. Además hay listeriolisina O y fosfolipasas. Estos factores permiten lisar y escapar de las vacuolas fagocitarias, una vez que se han internalizado en la célula. Luego tenemos la proteína polimerizadora de actina, ActA que produce la motilidad en el citoplasma celular e intercelular permitiendo la utilización de azúcares en el citosol celular durante su replicación intracitoplasmática (Wallecha y cols., 2009).

*Listeria* expresa inicialmente sus genes de virulencia mediante el control transcripcional del gen *proA*. Cuando la bacteria se expone a determinadas condiciones de estrés como son el pH ácido gástrico o a la baja concentración de iones y carbohidratos en el interior de las vacuolas fagocíticas se desencadena la expresión de estos productos (Kuhn y cols., 2008; Freitag y cols., 2009).

Determinar la dosis mínima infectiva causante de listeriosis es muy complicado, dado el variable periodo de incubación que puede llegar incluso a 70 días con una media de 21 días. Y a esto, sumamos los factores de los que depende como la cantidad de alimento consumido, niveles

de microorganismos en el alimento y el estado inmune del hospedador (ICMSF, 2002). La dosis mínima infectiva para la forma invasiva más grave que afecta a las poblaciones de riesgo (mujeres embarazadas, neonatos, ancianos, inmunodeprimidos y pacientes con condiciones subyacentes como alcoholismo, cirrosis, etc.) puede ser del orden de 100 a 1000 células/g (Drevets y Bronze, 2008). Existen otros trabajos que la sitúan entre  $10^2$  y  $10^9$  ufc/g (Jemmi y Stephan, 2006) y un informe del Center for Food Safety and Applied Nutrition y del Food Safety and Inspection Service (DHHS/CFSAN/FSIS/CDC, 2003) indica que no se han documentado casos de listeriosis con dosis infectivas inferiores a 1000 ufc/g.

Todos estos trabajos concuerdan con el establecido por el R. 2073/2005 sobre criterios microbiológico aplicables a los productos alimenticios de aceptar 100 ufc/g como límite máximo siempre y cuando se pueda demostrar que esos alimentos no lo superarán a lo largo de toda la vida útil. Este criterio está avalado por la EFSA y el ECDC que consideran la presencia de *L. monocytogenes* en niveles de hasta 100 ufc/g un riesgo despreciable para los alimentos listos para el consumo (EFSA, 2009).

## 2.4. Formas de presentación de la listeriosis humana

Se dan dos formas de presentación: forma de gastroenteritis febril y forma de enfermedad sistémica invasiva (Rocourt y Buchrieser, 2007). El desarrollo de una u otra forma va a depender del número de microorganismos ingeridos, virulencia del mismo y la susceptibilidad del hospedador (Elika, 2006). Este último factor es concluyente porque dependiendo del estado inmunitario del hospedador, *L. monocytogenes*, podrá atravesar el intestino delgado, invadir los fagocitos y transferirse a diversos órganos (Elika, 2006). Las poblaciones de mayor riesgo para esta enfermedad, como las embarazadas, los ancianos, los recién nacidos y las personas inmunocomprometidas (CDC, 2012) tienen una tasa de mortalidad comprendida entre el 20 y el 30 % (Rocourt y cols., 2001). En el caso de las embarazadas, la probabilidad de contraer listeriosis es 13 veces mayor que en otros adultos sanos, suponiendo el 17 % de los casos totales (CDC, 2012).



### 2.4.1. Forma de gastroenteritis febril o listeriosis no invasiva

Es la forma clínica más habitual. Aparentemente es una causa infrecuente ( $< 1\%$  de los casos) de diarrea febril esporádica. No obstante, desconocemos la incidencia real, ya que en España no se ha convertido en enfermedad de declaración obligatoria (EDO) hasta el 18 de marzo de 2015 y todavía ahora mismo atravesamos un periodo de transición en la aplicación de la nueva normativa que la considera EDO junto a otras enfermedades (Orden SSI/445 de 17/03/2015).

El inóculo necesario para causar la enfermedad varía notablemente dependiendo de la cepa y de la situación del huésped. Para los individuos sanos parecen necesarias dosis altas de *Listeria monocytogenes* para desencadenar la enfermedad ( $>10^6$  ufc/g). El periodo de incubación es de 1 a 7 días seguido de síntomas similares a los de una gripe (cefalea, artromialgias, náuseas, vómitos que pueden ir acompañados por dolor abdominal y diarrea). Estos síntomas suelen limitarse a dos días salvo que padezcan algún tipo de inmunodepresión. También puede ocurrir que los pacientes se conviertan en portadores asintomáticos.

### 2.4.2. Listeriosis invasiva o listeriosis sistémica

#### 2.4.2.1. Enfermedad gestacional y neonatal

En las gestantes que experimentan un inmunocompromiso relativo fisiológico y en las que generalmente no se detectan otros factores de riesgo conocidos para sufrir listeriosis lo más frecuente es fiebre sin foco aparente y con pocos síntomas concomitantes. Entre 2 y 6 semanas tras la infección se da un síndrome pseudogripal leve con fiebre, escalofríos, artromialgia, lumbalgia, tos, cefalea o síntomas gastrointestinales (cualquier combinación o uno solo de estos síntomas y signos). Suele resolverse espontáneamente salvo que ocasione amnionitis. La meningitis es muy rara.

La gravedad radica en que sobre todo en el tercer trimestre y más aún si el embarazo es múltiple suele ir seguida de aborto, muerte fetal intraútero, mayor tasa de cesáreas, prematuridad, sepsis y muerte neonatal. Es fundamental realizar hemocultivos a toda mujer embarazada con fiebre, aunque la semiología parezca banal.

Los neonatos pueden adquirir la infección intraútero o intraparto y sufrir sepsis, microabscesos y granulomas diseminados (granulomatosis infantiséptica), infección que conlleva

una mortalidad y morbilidad importantes, siendo frecuente la hidrocefalia persistente en el caso de la meningitis. La prematuridad es el principal factor de riesgo.

La listeriosis pediátrica no neonatal es infrecuente y suele tener mejor pronóstico.

#### **2.4.2.2. Bacteriemia**

Forma clínica más frecuente en inmunodeprimidos sin tener foco identificable, y cursando con fiebre, deterioro rápido y a menudo fulminante (Suárez y cols., 2007). Es más frecuente que la meningitis.

#### **2.4.2.3. Infección del sistema nervioso central**

Pueden darse meningitis, meningoencefalitis o cerebritis. La afectación cerebral es caprichosa en ubicación, difusa o localizada formando abscesos. La infección del SNC es menos frecuente en embarazadas.

La meningoencefalitis afecta a neonatos, adultos mayores de 60 años e inmunodeprimidos, aunque un 30 % de los pacientes no tienen factores subyacentes identificables. El espectro clínico va desde un cuadro sutil a uno fulminante y coma.

Puede complicarse con encefalitis con alteraciones de pares craneales, temblor, ataxia, hemiplejía, sordera o convulsiones.

Es muy característica la llamada romboencefalitis, así denominada por afectar de forma especial al tronco del encéfalo.

La cerebritis se produce tras la implantación por vía hematógena, y a menudo no se acompaña de meningitis. La semiología es similar a las otras entidades.

#### **2.4.2.4. Otras formas**

Ocasionalmente se han relatado endocarditis por bacteriemia causada por *Listeria*. Se han descrito menos de 100 casos en todo el mundo con una mortalidad en torno al 50 %. Igualmente, la mayoría de los casos de peritonitis bacteriana se han descrito en España (Nolla-Salas y cols., 2002) y en pacientes con cirrosis avanzada, la evolución suele ser rápida y fatal. Se han descrito casos de exantema papular o pustuloso en ocasiones acompañado de fiebre por inoculación directa

en el contexto del contacto con neonatos infectados o ganado enfermo y también en patólogos o veterinarios. Asimismo puede cursar con conjuntivitis, artritis, miocarditis, pericarditis, osteomielitis, abscesos espinales, neumonía, empiema o linfadenitis.

Como conclusión diremos que se trata de una gran imitadora. Puede causar infecciones aparentemente banales en embarazadas que tendrán una importante repercusión clínica en el feto o en el neonato. En la infección del SNC, los síntomas y signos son, a veces, insidiosos. Es importante mantener un alto grado de sospecha clínica (Sánchez y Palencia, 2010).

## **2.5. Epidemiología. Clasificación como enfermedad de declaración obligatoria (EDO)**

En España la vigilancia de enfermedades transmisibles está regulada legislativamente (Real Decreto 2210/1995). A esta norma se añaden las Decisiones de la Unión Europea (Decisión nº 1082/2013/UE) y el Reglamento Sanitario Internacional de la Organización Mundial de la Salud (Revisión del Reglamento Sanitario Internacional, 2005). La vigilancia de enfermedades transmisibles en la Unión Europea está coordinada por el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (Reglamento (CE) 851/2004).

La vigilancia se sustenta en la actividad de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) que gestiona el Centro Nacional de Epidemiología (CNE). La responsabilidad de las medidas recae en el nivel autonómico y la mayor parte de las mismas se llevan a cabo en el nivel local, que es el más cercano a donde se produce el caso o brote, pero en algunas ocasiones se precisa la intervención o coordinación de las autoridades autonómicas, nacionales o internacionales.

La RENAVE articula la vigilancia integrando la notificación y la investigación epidemiológica de casos de enfermedades transmisibles, de brotes o de microorganismos.

### **2.5.1. Protocolo de la listeriosis según la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE)**

Los protocolos presentan las diferentes enfermedades por orden alfabético. Para cada enfermedad sujeta a notificación la estructura es similar, tras una breve revisión etiológica y

epidemiológica de la misma, se concreta la definición de caso de acuerdo con criterios clínicos, de laboratorio y epidemiológicos (CNE, 2013a).

#### **2.5.1.1. Definición de caso de listeriosis**

##### **2.5.1.1.1. Criterio clínico**

Persona que presenta, al menos, una de las siguientes manifestaciones:

1. Listeriosis neonatal: caracterizada por mortinato o, al menos, uno de los siguientes signos en el primer mes de vida: granulomatosis infantiséptica, meningitis o meningoencefalitis, septicemia, disnea o lesiones cutáneas, mucosas o conjuntivales.
2. Listeriosis del embarazo: caracterizada por, al menos, una de las tres siguientes manifestaciones: aborto, provocado o espontáneo, mortinato o parto prematuro, fiebre o síndrome pseudogripal.
3. Otras formas de listeriosis: caracterizada al menos por una de las cuatro siguientes manifestaciones: fiebre, meningitis o meningoencefalitis, septicemia o infecciones localizadas como artritis, endocarditis y abscesos.

##### **2.5.1.1.2. Criterio de laboratorio**

Al menos uno de los dos criterios siguientes:

- Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en una ubicación normalmente estéril.
- Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en una ubicación normalmente no estéril: feto, mortinato, recién nacido o en la madre antes de transcurridas 24 horas del parto.

##### **2.5.1.1.3. Criterio epidemiológico**

Al menos una de las tres relaciones epidemiológicas siguientes:

- Contacto con un caso o transmisión vertical.
- Exposición a una fuente común.
- Exposición a alimentos o agua de beber contaminados.

#### **2.5.1.1.4. Clasificación de los casos**

- Caso sospechoso: no procede.
- Caso probable: persona que satisface los criterios clínicos y con una relación epidemiológica.
- Caso confirmado: persona que satisface los criterios de laboratorio o madre cuyo feto, mortinato o recién nacido presentan listeriosis confirmada en el laboratorio.

Los casos ocurridos en madre y recién nacido deben notificarse como dos casos y, por tanto, brote, como veremos a continuación.

A partir de esta definición de caso se definirá brote como la presentación de dos o más casos de listeriosis con una relación epidemiológica.

#### **2.5.1.2. Modo de vigilancia**

La comunidad autónoma (C. A.) notifica de forma individualizada los casos probables y confirmados de listeriosis al Centro Nacional de Epidemiología (CNE) a través de Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) anexando la encuesta epidemiológica con una periodicidad semanal. La información del caso podrá actualizarse después de la declaración inicial y se realiza una consolidación anual de la información.

Si se trata de un brote el servicio de vigilancia de la C. A. enviará el informe final del brote al CNE en un periodo de tiempo no superior a tres meses después de finalizada la investigación junto con las encuestas epidemiológicas de los casos implicados.

Ante casos o brotes en los que se sospecha una asociación con un alimento comercializado, la C. A. lo comunica de forma urgente al Centro Coordinador de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES) y al CNE. El CCAES valora junto con las CC. AA. afectadas las medidas a tomar y, si fuera necesario, su notificación al Sistema de Alerta y Respuesta Rápida de la Unión Europea (Sistema de Alerta Precoz y Respuesta Rápida, SIAPR, en las CC. AA. y Sistema de alerta precoz y respuesta para la vigilancia y control de las enfermedades transmisibles de la Comisión Europea, EWRS), y a la OMS de acuerdo con el Reglamento Sanitario Internacional (RSI, 2005).

En los últimos años se ha detectado un incremento de la incidencia de la listeriosis en España (Parrilla y Vaqué, 2014), aunque pueden existir más casos de los que han sido declarados, ya que en España hasta el día 18 de marzo de 2015 no se incluyó la listeriosis en el sistema de enfermedades de declaración obligatoria (EDO) (Orden SSI/445/2015). Además se ha abierto un periodo de transición para adaptarse a esta modificación, por lo que a día de hoy (septiembre 2017), todavía no es efectivo el sistema EDO para la listeriosis.

Como consideraciones importantes a la hora de valorar la más que probable subdeclaración diremos:

- No ser enfermedad de declaración obligatoria (hasta el año 2015).
- Forma de presentación habitual inespecífica, difícilmente diagnosticable por ser indistinguible clínicamente de otros procesos. Esto provoca, sin duda, infradiagnóstico.
- Los hábitos de consumo en España y su aparición en casos esporádicos aislados por goteo. Solo serán brotes dos o más casos con relación epidemiológica y esto conllevaría un estudio más profundo que el realizado en casos individuales.

Hechas estas consideraciones analizaremos los últimos datos disponibles sobre presentación de la listeriosis en Aragón, España y la UE.

#### **2.5.1.2.1. Vigilancia en Aragón y en España**

En Aragón, desde 2005 hasta 2016 se han notificado mediante el Sistema EDO individualizado, 32 casos, de los cuales 22 pertenecen al epígrafe “otras meningitis” y 10 al epígrafe “toxiinfección alimentaria”. Más del 60 % de los casos son mayores de 65 años (BESA, 2016).

Según los Informes del Centro Nacional de Epidemiología (2011 a 2016) y del Sistema de Información Microbiológica (2015 y 2016) se dispone de una serie de datos que se recogen en la tabla 3 (CNE, 2011 a 2016) (SIM, 2016a, b).

Tabla 3. Descripciones epidemiológicas de la enfermedad listeriosis notificadas entre 2009 y 2016 en España.

Año	Casos			Notificados por CC. AA.	Defunciones				Meses con más casos	Grupos de edad (años)		
	Totales	Hombres	Mujeres		Hombres	Mujeres	Tasas por 10 <sup>5</sup> habs.			Ambos sexos	Hombres	Mujeres
<b>2009</b>	142	75	67		12	10	0,05	0,04	Sep: 22 Jul: 19 Ags: 17	55-64: 28 65-74: 29 75-84: 25	45-54: 11 55-64: 19 65-74: 12 75-84: 16	25-34: 9 55-64: 9 65-74: 17 75-84: 9
<b>2010</b>	129	64	65		8	13	0,04	0,06	Ags: 18 Sep: 16 May: 14 Oct y dcb: 13	55-64: 22 65-74: 24 75-84: 27	55-64: 13 65-74: 14 75-84: 16	35-44: 11 55-64: 19 65-74: 10 75-84: 11
<b>2011</b>	115*	61	53		11	2	0,05	0,01	Jul y ags: 13 oct: 10 Feb, jun y nov: 11 May: 10	55-64: 22 65-74: 20 75-84: 23	55-64: 13 65-74: 14 75-84: 15	55-64: 9 75-84: 8 ≥85: 11
<b>2012</b>	128*	76	48		4	5	0,018	0,021	Ene: 20 Abr: 17 Dcb: 14	55-64: 26 65-74: 31 75-84: 22	55-64: 22 65-74: 23 75-84: 11	65-74: 8 75-84: 11

Año	Casos			Notificados por CC. AA.	Defunciones				Meses con más casos	Grupos de edad (años)		
					Tasas por 10 <sup>5</sup> habs.							
					Totales	Hombres	Mujeres	Hombres		Mujeres	Hombres	Mujeres
2013	143	79	64		8	3	0,04	0,01	Sep: 22 Jun: 16 jul: 16 Dcb: 15	55-64: 19 65-74: 24 75-84: 28	55-64: 13 65-74: 18 75-84: 16	25-34: 14  75-84: 12
2014**	160	82	78	Cataluña: 61 País vasco: 26 Castilla y León: 17	8	6	0,04	0,03	Ene: 26 Mar: 18 Abr: 15 Nvb: 14	55-64: 30 65-74: 34 75-84: 31	55-64: 17 65-74: 26 75-84: 14	25-34: 11 55-64: 13  75-84: 17
2015	138	77	61	Cataluña: 69 País Vasco: 18 Extremadura: 13 Asturias: 12					Nvb: 21 Ene: 16	25-34: 18 45-46: 33 ≥ 64: 82		
2016***	94	47	46	Cataluña: 41 País Vasco: 29 Aragón: 13						<1: 3 50-59: 10 ≥64: 70		

\*: - desconocidos: 1 en 2011;  
4 en 2012.

\*\*\*: - Tras la aprobación en 2013 de los nuevos protocolos de la RENAVE, algunas CC. AA. comenzaron a notificar esta enfermedad como EDO en 2014 y sus datos se añaden a las que la notificaban por el SIM.

- En 2014 se notificó un brote de listeriosis de transmisión madre-hijo.

\*\*\*2016: Solo datos de los tres primeros trimestres declarados al SIM (Sistema de información microbiológica)



La listeriosis aparece en la lista de enfermedades de declaración obligatoria con el número 38 y es de declaración semanal con envío de datos epidemiológicos básicos. A partir del 2014 se notifica la enfermedad como EDO y sus datos se añaden a las que la notificaban por el SIM. Todavía no está totalmente implantado el procedimiento de notificación. De ahí pueden surgir estas variaciones según la entidad que recoge los datos (CNE o SIM).

En la Tabla 3 se aprecia como desde el 2009, con 142 casos, el número de casos desciende hasta el año 2012. En 2012 los casos de listeriosis han aumentado ligeramente respecto al año anterior, hecho que podría estar relacionado con la búsqueda prospectiva y retrospectiva de casos que se llevó a cabo durante la investigación de un brote de listeriosis que afectó a varias CC. AA. En los años 2013 y 2014 se observa un aumento en el número de casos, sobre todo en este último, posiblemente debido a la adición de la listeriosis como enfermedad EDO y los notificados por el SIM. En los años siguientes, 2015 y 2016, los casos de listeriosis descienden. La distribución por edad y sexo sigue el patrón habitual para esta enfermedad. En 2009 los casos de listeriosis declarados en adultos jóvenes son mayoritariamente mujeres, probablemente debido a los problemas que causa esta bacteria durante el embarazo.

#### **2.5.1.2.2. Vigilancia en la Unión Europea**

Considerando el último informe EFSA-ECDC referido a 2015 puede afirmarse que la listeriosis es una relativamente rara, pero seria enfermedad zoonótica, con altas tasas de morbilidad, hospitalización y mortalidad en poblaciones vulnerables. De todas las zoonosis sometidas a vigilancia en la UE es la de mayor severidad con el 97,4 % de hospitalizaciones y 270 decesos con una tasa del 17,7 %. En los últimos 7 años ha habido un incremento en la tendencia de listeriosis en la UE y concretamente en 2015 las notificaciones han aumentado un 2 % respecto a 2014.

Se han declarado 14 brotes, 5 de ellos con fuerte evidencia de que fueron causados por *Listeria monocytogenes*, e informados por 9 Estados miembros. Tuvieron como resultado 230 casos, 25 hospitalizaciones y 4 muertes. Los alimentos vehículo fueron comidas preparadas, comidas de buffet, carne de cerdo y productos cárnicos.

Como venimos advirtiendo *L. monocytogenes* es una bacteria ambiental de difícil control y, consecuentemente, una amplia variedad de materias primas puede estar contaminada. El riesgo aceptable para los productos LPC está establecido en 100 ufc/g y no debe ser sobrepasado en toda su vida útil, considerándolo un criterio de seguridad alimentaria.

En 2015 los alimentos LPC que han incumplido este criterio lo han hecho en niveles similares a los de años anteriores. La proporción de alimentos que incumplían en el comercio minorista fue menor que en la industria excepto en quesos. La proporción de muestras positivas a *L. monocytogenes* ha sido más alta en productos de la pesca (principalmente ahumados), a continuación tenemos los productos cárnicos listos para el consumo y, en tercer lugar, los productos lácteos.

Refiriéndonos concretamente a los productos cárnicos de porcino, LPC, *L. monocytogenes* fue detectada en el 2,5 % de las muestras y con un 0,38 % de incumplimientos.

También han sido informados numerosos casos de aislamientos de *Listeria* en animales vivos (vacuno, ovino, caprino, porcino, perros, zorros, caballos). Al estar ampliamente extendida en el ambiente y tener en el suelo su principal nicho, un aumento de la exposición puede desencadenar enfermedad clínica en los animales.

## 2.6. Brotes de listeriosis humana asociados al consumo de alimentos

Como hemos visto en el apartado anterior la listeriosis suele aparecer en nuestro medio más en forma de casos esporádicos aislados, que en brotes. No suelen presentarse clústeres geográficos y sí que en ocasiones tenemos casos asociados, el más común el de madre y recién nacido infectado a través de la placenta o bien en el canal del parto. Por ejemplo en España se declararon dos casos asociados por haber consumido el mismo tipo de “Queso Latino” en el País Vasco (De Castro y cols., 2012).

Esta presentación se debe principalmente a tres causas:

- Fuerte relación con la susceptibilidad individual y con los estados, más o menos severos de inmunocompromiso, que hacen variar la dosis infectante desde  $10^3$  a  $10^7$  ufc/g.
- Periodo de incubación muy variable (desde 3 a 70 días).
- Hábitos de consumo más localizado y con un peso de los productos listos para el consumo en la cesta de la compra, menor que en el mercado norteamericano. Esta tendencia se está invirtiendo en los últimos años.

A continuación se refleja en la Tabla 4 la importancia que tiene la susceptibilidad individual en la listeriosis (Domínguez Carmona, 2007). Según el mismo autor, el riesgo “0” es inalcanzable

por la enorme variedad de alimentos disponibles, por la diversidad de los sistemas de conservación utilizados, por la complejidad de la cadena de distribución y venta, y por la propia naturaleza humana.

Tabla 4. Riesgo relativo de listeriosis en determinadas poblaciones humanas

Grupo poblacional	Riesgo relativo
Población total	1*
Población mayor de 70 años	3
Mujeres embarazadas	17
Enfermos VIH positivos	200

\* Riesgo absoluto, 7 casos/millón.

La definición de brote de listeriosis según RENAVE (CNE, 2013a) es la presentación de dos o más casos que tienen una relación epidemiológica. Y en el caso de los asociados al consumo de alimentos serán dos o más casos expuestos a alimentos o agua contaminados con *Listeria monocytogenes*. Vamos a referir los principales brotes de listeriosis acaecidos en los últimos años según distintas publicaciones científicas (Warriner y Namvar, 2009; CDC, 2011, 2012, 2013, 2014a, b, c, d; 2015a, b; 2016a, b, c; 2017 y EFSA-ECDC 2013a, b; 2014; 2015).

Tabla 5. Brotes alimentarios de *Listeria monocytogenes* y alimentos implicados

Año	Lugar	N.º Casos	Muertes	Alimento	Referencias
1979	EE. UU.	20	5	Ensaladas	Ho y cols., 1986
1981	Canadá	41	18	Ensalada de col	Schlech y cols., 1983
1983	EE. UU.	49	14	Leche pasteurizada	Fleming y cols., 1985
1983	Suiza	122	34	Queso pasta blanda	Bula y cols., 1995
1985	EE. UU.	142	48	Queso mejicano	Linnan y cols., 1988
1988	Reino Unido	>300	>90	Paté	Mclauchlin y cols., 1991
1989	EE. UU.	10		Camarón	Riedo y cols., 1994
1992	Francia	285	85	Lengua de cerdo en gelatina	Jacquet y cols., 1995

Año	Lugar	N.º Casos	Muertes	Alimento	Referencias
1993	Italia	18		Ensalada de arroz	Salamina y cols., 1996
1994	EE. UU.	48		Batido de chocolate	Frye y Donnelly, 2005
1994	Finlandia	5		Trucha ahumada	Lyytikäinen y cols., 2006
1995	Francia	20	4	Queso Brie de Meaux	Goulet y cols., 1995
1997	Italia	1556		Ensalada de atún y maíz	Aureli y cols., 2000
1997	EE. UU.	>100	21	Hot dog y hamburguesas	Perl., 2000
1998	EE. UU.	105	20	Hot dog	Graves, 2005
1999	Finlandia	25	6	Mantequilla pasteurizada	Lyytikäinen y cols., 2000
1999	EE. UU.	4		Hot dog	Gould y cols., 2014
1999-2000	Francia	26	10	Lengua de cerdo y paté	de Valk, 2000
2000	EE. UU.	30		Embutido	Olsen y cols., 2005
2000	EE. UU.	13		Queso fresco	MacDonald y cols., 2005
2001	EE. UU.	6		Embutido	Gottlieb y cols., 2006
2001	Japón	38		Queso	Makino y cols., 2005
2002	EE. UU.	54		Embutido	Gottlieb y cols., 2006
2002	Francia	8	1	Salchicha LPC	Goulet y cols., 2002
2003	EE. UU.	12		Queso fresco	Gould y cols., 2014
2003	EE. UU.	3		Desconocido	Varma y cols., 2007
2003	Reino Unido	5		Sandwich envasado	Dawson y cols., 2006
2004-2007	EE. UU.	135	22	Queso fresco	Moreno-Enríquez 2007; Conly y Johnston, 2008
2005	Suiza	8	3	Queso Tomme	Bille y cols., 2006

Año	Lugar	N.º Casos	Muertes	Alimento	Referencias
2006	Rep. Checa	75		Desconocido	Vit y cols., 2007
2006	Noruega	21	5	Queso fresco	EFSA, 2007a
2006-2007	Bélgica	11		Desconocido	Yde y cols. 2010
2007	EE. UU.	5	3	Leche pasteurizada con sabor	Cumming y cols., 2008
2008	Canadá	57	23	Deli meats	Weatherill, 2009
2008	Canadá	23	1	Queso de pasta blanda	Gaulin y cols., 2012
2009-2010	Austria, Alemania, Rep. Checa	34	8	Requesón	Fretz y cols., 2010
2011	EE. UU.	147	33	Melones Cantaloupe	CDC, 2011
2012	EE. UU.	22	4	Ensalada de queso importada de Italia	CDC, 2012
2012-2014	Dinamarca	41	17	Rollo de carne especiado	ECDC-EFSA, 2013a
2013	EE. UU.	6	1	Queso	CDC, 2013
2014	EE. UU.	35	7	Caramelos de manzana preenvasados	CDC, 2014a
2014	EE. UU.	5	2	Semillas de soja	CDC, 2014b
2014	EE. UU.	5	1	Queso suave	CDC, 2014c
2014	EE. UU.	8	1	Queso fresco	CDC, 2014d
2015	EE. UU.	10	3	Helado nata	CDC, 2015a
2015	EE. UU.	30	3	Queso pasta blanda	CDC, 2015b
2015	Alemania	159		Puding de arroz	EFSA-ECDC, 2015
2016	EE. UU.	9	3	Vegetales congelados	CDC, 2016a
2016	EE. UU.	2	1	Leche cruda	CDC, 2016b
2016	EE. UU.	19	1	Ensaladas precortadas	CDC, 2016c
2017	EE. UU.	8	2	Queso blando elaborado con leche cruda	CDC, 2017

Los sistemas de vigilancia de los brotes han cambiado, mejorándose los registros. Salta a la vista que años atrás eran muy pocos los países que declaraban sus brotes. De hecho hay notables diferencias entre los Estados Miembros de la Unión Europea en cuanto a estrategias de vigilancia, por ejemplo en los procedimientos y métodos de muestreo (EFSA, 2007b), y queda aún una ingente tarea de cara a armonizar los criterios.

## **2.7. *Listeria monocytogenes* y la exportación de productos cárnicos LPC**

En este apartado se quiere reseñar la extraordinaria importancia que adquiere el control de *Listeria monocytogenes* para los elaboradores de productos cárnicos listos para el consumo (LPC). Como se ha señalado anteriormente no solo en las solicitudes de autorización de los establecimientos para exportar a terceros países, sino en los controles que realizan estos en destino y, por supuesto, en las auditorías que estos países realizan a los establecimientos españoles *in situ*, este aspecto figura de forma prioritaria. Por ello, se puede afirmar que es un requisito imprescindible para poder exportar y de ahí el título de esta parte de la tesis. Se podría considerar que si un industrial cárnico tiene bien controlado el peligro *L. monocytogenes* significará que su sistema de seguridad alimentaria general es consistente y eficaz y, en caso contrario, sus posibilidades de expansión comercial se verán fuertemente comprometidas.

Se exponen a continuación los distintos requerimientos reglamentarios que para este cometido figuran. Se comienza con la Unión Europea (UE) y se continúa con los principales bloques comerciales y países individuales que son primeros destinos de nuestras exportaciones cárnicas y que exigen requisitos especiales, tanto directamente exigiendo diferentes criterios microbiológicos, o indirectamente requiriendo planes de control no regulados en la UE.

### **2.7.1. Requerimientos en la Unión Europea (UE)**

La normativa fundamental es el R. 2073/2005 sobre criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Esta normativa establece el requisito de que los operadores efectúen la investigación y el recuento de *Listeria monocytogenes* dentro de sus sistemas de autocontrol para productos cárnicos listos para el consumo (LPC) incluyendo los dirigidos a lactantes y usos médicos especiales.

La estrategia de la Unión Europea para el criterio microbiológico es que los alimentos LPC deben ser comercializados con recuentos de *L. monocytogenes* por debajo de 100 ufc/g.

### 2.7.1.1. Criterios microbiológicos para *Listeria monocytogenes* en alimentos LPC

Los criterios microbiológicos establecidos se exponen en la Tabla 6.

Tabla 6. Criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios para *Listeria monocytogenes* en alimentos LPC según el R. 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005

Categorías de alimentos	Plan de toma de muestras		Límites		Método analítico de referencia	Fase en la que se aplica el criterio
	n	c	m	M		
Alimentos listos para el consumo destinados a lactantes, y alimentos listos para el consumo destinados a usos médicos especiales	10	0	Ausencia en 25 g		EN/ISO 11290-1	Productos comercializados durante su vida útil
Alimentos listos para el consumo que puedan favorecer el desarrollo de <i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2	Productos comercializados durante su vida útil
	5	0	Ausencia en 25		EN/ISO 11290-1	Antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador que lo ha producido
Alimentos listos para el consumo que no puedan favorecer el desarrollo de <i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2	Productos comercializados durante su vida útil

Vemos que adquiere una gran importancia el límite de seguridad de 100 ufc/g y la capacidad que tenga el operador económico de demostrar que no se superará durante toda su vida útil.

### 2.7.1.2. Alimentos no favorecedores del crecimiento de *Listeria monocytogenes*

Conforme a este reglamento los industriales tienen que evaluar el riesgo dentro de sus procedimientos basados en el sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC), considerando que no favorecen el desarrollo de *Listeria* y, en consecuencia, en circunstancias

normales, no se les exige realizar pruebas regulares respecto a este criterio en los siguientes productos alimenticios LPC:

- Frutas y hortalizas frescas enteras.
- Alimentos tratados térmicamente y sin posibilidad de recontaminarse.
- Pan, galletas, azúcar, miel, productos de cacao, chocolate y golosinas.
- Moluscos bivalvos vivos.
- Aguas envasadas, refrescos, cerveza, sidra, vino...
- Sal de cocina (R. 365/2010).

Además se considera que pertenecen automáticamente a esta categoría de no favorecedores del desarrollo de *L. monocytogenes* los siguientes alimentos:

- Alimentos con  $\text{pH} \leq 4,4$ .
- Alimentos con  $a_w \leq 0,92$ .
- Alimentos con  $\text{pH} \leq 5$  y  $a_w \leq 0,94$ .
- Alimentos con vida útil inferior a 5 días.
- Otros productos que se justifique científicamente.

#### 2.7.1.3. Muestreo de superficies

Además de los requisitos sobre los productos cárnicos LPC, el R. 2073/2005 establece en su artículo 5; punto 2; la obligación de muestrear superficies:

«Los explotadores de empresas alimentarias que produzcan alimentos listos para el consumo susceptibles de plantear un riesgo de *Listeria monocytogenes* para la salud pública deberán tomar siempre muestras de las zonas y el equipo de producción, como parte de su plan de muestreo, con el fin de detectar la presencia de dicha bacteria».

Aunque no está establecido el número de muestras a tomar ni las frecuencias, una vez que el operador alimentario haya realizado dentro de sus procedimientos APPCC el análisis de peligros y determinado si elabora productos susceptibles de presentar riesgo, deberá incluir dentro de su plan de muestreo la toma de muestras de superficies.



Además, dependiendo del objetivo que se persiga, la toma de muestras se realizará en un momento u otro con el fin de detectar la posible presencia de la bacteria:

- Verificación de una adecuada limpieza y desinfección: se llevará a cabo sobre las superficies limpias y desinfectadas y sin presencia de desinfectante residual, con neutralizador de desinfectante o habiendo transcurrido el tiempo necesario para que desaparezcan los residuos de desinfectante. El criterio de aceptabilidad debe ser siempre ausencia en la superficie muestreada, ya que no pueden darse por satisfactorias las superficies preparadas para su uso con presencia de *Listeria*. El riesgo será muy diferente si se trata de una superficie de contacto directo o no, si la posible contaminación puede afectar a materia prima o producto procesado y otras consideraciones para evaluar su probabilidad de ocurrencia.
- Valorar la posibilidad de contaminación por *Listeria* con la planta en funcionamiento y en superficies ya usadas o utilizándose. Se trataría fundamentalmente de superficies de contacto directo y el objetivo es detectar si existe peligro de contaminación directa sobre los alimentos.

En los dos casos sería recomendable solicitar identificación de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* porque la detección de cualquier cepa no patógena de *Listeria* supone activar las medidas de control, ya que la aparición de contaminación por la especie patógena puede ser inminente al compartir los mismos nichos.

#### 2.7.1.4. Estudios complementarios para evitar el riesgo de una listeriosis

Resumiendo, la postura de la Unión Europea pivota sobre las garantías que el operador alimentario ofrezca un producto listo para el consumo que no superará el límite de dos logaritmos a lo largo de toda su vida útil. Basa esta garantía en los dictámenes de los Comités Científicos de la EFSA y lo dispuesto en el artículo 3; punto 2; del R. 2073/2005:

«Cuando sea necesario, los explotadores de las empresas alimentarias responsables de la fabricación del producto realizarán estudios complementarios conforme a lo dispuesto en el anexo II para investigar el cumplimiento de los criterios a lo largo de toda la vida útil. Esto es aplicable especialmente a los alimentos listos para el consumo que pueden permitir el desarrollo de *Listeria monocytogenes* y puedan suponer un riesgo para la salud pública con relación a dicha bacteria».

Más adelante (Anexo II) el reglamento concreta que estos estudios se referirán a:

- Especificaciones de las características fisicoquímicas del producto, como pH,  $a_w$ , contenido de sal, concentración de conservantes y tipo de sistema de envasado, teniendo en cuenta las condiciones de almacenamiento y transformación, las posibilidades de contaminación y la vida útil prevista.
- La consulta bibliográfica científica y de los datos de investigación disponibles acerca de los aspectos que caracterizan el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos en cuestión.

Cuando sea necesario, basándose en los estudios antes mencionados, el operador realizará estudios complementarios como los siguientes:

- Elaboración de modelos matemáticos de pronóstico establecidos para el alimento de que se trate, utilizando factores críticos de crecimiento o supervivencia aplicables a los microorganismos en cuestión presentes en el producto.
- Pruebas para investigar la capacidad que tiene el microorganismo en cuestión, adecuadamente inoculado, para crecer o sobrevivir en el producto en diferentes condiciones de almacenamiento razonablemente previsibles (challenge test).
- Estudios para evaluar el crecimiento o supervivencia de los microorganismos en cuestión que puedan estar presentes en el producto durante su vida útil en condiciones razonablemente previsibles de distribución, almacenamiento y utilización (durabilidad).

Los estudios anteriormente citados tendrán en cuenta la variabilidad inherente al producto, los microorganismos en cuestión y las condiciones de transformación y almacenamiento.

Si estas demostraciones, anteriormente detalladas no son satisfactorias el criterio en la Unión Europea es ausencia en 25 g.

No obstante, y como veremos a continuación esto origina problemas en cuanto a las exigencias y requisitos de otros países terceros que exigen tolerancia “cero” o bien situaciones próximas.

### **2.7.2. Requerimientos en los Estados Unidos de América**

Los fabricantes de productos LPC que quieran exportar a los EE. UU. deben aplicar el Code of Federal Regulations (CFR), especialmente “Title 9: Animals and animal products. Part 430:

Requirements for specific classes of product. Contents §430,1 Definitions and C §430,4 Control of *Listeria monocytogenes* in post-lethality exposed ready-to-eat products” (CFR, 2015). Y además, la Directiva FSIS 10240.4 (2014a). Procedimientos de verificación en relación con el reglamento sobre *Listeria monocytogenes* y los programas de muestra de productos LPC.

El Food Safety and Inspection Service (FSIS) es el organismo encargado del control de los productos cárnicos que se exportan a los EE. UU., que actualmente son productos cárnicos de porcino, fundamentalmente jamón, otras salazones y embutidos; aunque también se exportan algunos productos cárnicos cocidos. De conformidad con esta reglamentación los elaboradores de productos expuestos a la contaminación medioambiental después de los tratamientos letales deberán escoger una estrategia de control de *L. monocytogenes*. Es preciso, previamente, definir los siguientes términos:

- **Agente antimicrobiano:** una sustancia incluida o añadida a un alimento LPC que tiene el efecto de reducir o eliminar un microorganismo, incluido un patógeno como *L. monocytogenes*, o que tiene el efecto de inhibir o limitar el crecimiento de *L. monocytogenes* a lo largo de toda la vida del producto (p. ej. lactato de potasio y diacetato de sodio).
- **Proceso antimicrobiano:** una operación como la congelación, el secado, la fermentación, etc., que inhibe o limita el crecimiento de un microorganismo como *L. monocytogenes* a lo largo de toda la vida útil del producto.
- **FCS:** superficie en contacto directo con el alimento.
- **NFC:** superficie que no está en contacto directo con el alimento».
- **Tratamiento letal o de letalidad:** un procedimiento, incluida la aplicación de un agente antimicrobiano, que elimina o reduce el número de microorganismos patógenos sobre o dentro de un producto para hacer dicho producto seguro para el consumo humano.
- **Entorno de procesamiento posletal:** área de un establecimiento (con inclusión de las superficies de contacto y no contacto) en el que se procesa producto después del proceso antimicrobiano, del tratamiento de letalidad o de la adición del agente antimicrobiano y en la que el producto es expuesto a recontaminación (p. ej. salas de deshuese de jamones curados, de loncheado de productos cárnicos terminados o de envasado de productos).

- **Línea de producción alimentos LPC:** conjunto de equipos y FCS en la que es procesado un producto LPC con exposición posletal que se integra en una entrada y una salida de producto independiente (p. ej. dos líneas paralelas con entrada y salida independiente de producto constituyen dos líneas de producción LPC. Varias entradas de producto que confluyen en una salida de producto única constituyen una línea).
- **Producto expuesto:** producto LPC que entra en contacto directo con una FCS en un entorno de procesamiento posletal donde puede recontaminarse.
- **Tratamiento posletal:** es un tratamiento de letalidad que se aplica o es eficaz después de que el producto haya sido expuesto a un entorno de procesamiento donde puede haberse recontaminado.

La elección de una alternativa de control (parte 430.4 del 9 CFR. 2015) solo será exigible para los productos destinados a la exportación a los EE. UU. Los operadores/empresas deberán acogerse a una de estas 4 alternativas:

- **Primera alternativa.**

Un establecimiento que decide utilizar la primera alternativa en la elaboración de su producto debe aplicar:

Un tratamiento posletal, que elimina o reduce el número de microorganismos sobre o dentro del producto y un agente o proceso antimicrobiano que inhibe o limita el crecimiento de *L. monocytogenes*.

El tratamiento de letalidad:

- a) Tiene que ser un PCC (punto de control crítico) y estar incluido en los procedimientos APPCC.
- b) El tratamiento posletal debe estar validado mediante test de desafío (challenge test) o artículos de investigación que hagan referencia a los mismos parámetros.
- c) Se debe documentar la eficacia del agente antimicrobiano o del proceso en el plan APPCC, en el PNCH o en un plan de prerrequisitos específico, indicando que, tal y como se aplica, es efectivo para inhibir o limitar el crecimiento de *L. monocytogenes*.

Existirá un muestreo de superficies de contacto con la finalidad de determinar que no se alcanzan en el entorno de procesamiento niveles de contaminación por *L. monocytogenes* que puedan cuestionar la eficacia del tratamiento de letalidad.

El tratamiento posletal (puede ser también un agente antimicrobiano) reduce o elimina los microorganismos en los productos.

- **Segunda alternativa.**

Un establecimiento que decide utilizar la segunda alternativa en la preparación de su producto debe aplicar bien un tratamiento posletal o bien un agente o proceso antimicrobiano que controle el crecimiento de *L. monocytogenes*. Así tenemos:

**2A** Un tratamiento posletal.

El tratamiento posletal (puede ser también un agente antimicrobiano) que reduce o elimina los microorganismos en los productos y:

- a) Tiene que ser un PCC (punto de control crítico) y estar incluido en los procedimientos APPCC.
- b) El tratamiento posletal debe estar validado.

**2B** Un agente o proceso antimicrobiano que controle el crecimiento de *L. monocytogenes*:

- a) Se debe documentar la eficacia del agente antimicrobiano o del proceso en el plan APPCC, en el PNCH o en un plan de prerrequisitos específico, indicando que, tal y como se aplica, es efectivo para inhibir o limitar el crecimiento de *L. monocytogenes*.
- b) Disponer de un programa normalizado de control de la higiene que incluya:
  - b.1. Análisis de las FCS en el entorno de procesamiento posletal con el fin de asegurar que *L. monocytogenes* o un organismo indicador (normalmente *Listeria* spp.) no está presente en las superficies.
  - b.2. Identificación de las condiciones en las que el establecimiento aplicará los procedimientos de “retención” y “test”, tras la detección de *L. monocytogenes* en FCS o un organismo indicador.
  - b.3. Frecuencia de muestreo.

b.4. Identificación del tamaño y localización de los puntos donde se tomarán las muestras.

b.5. Inclusión de una explicación de por qué la frecuencia de los tests es suficiente para asegurar que se mantiene el control efectivo de *L. monocytogenes* o un organismo indicador.

- **Tercera alternativa**

Un establecimiento que decide utilizar la tercera alternativa, utilizará exclusivamente medidas de control de la higiene en las instalaciones como prevención frente a *L. monocytogenes*. Además, dispondrá de un programa normalizado de control de la higiene que incluya:

- a.1. Análisis de las FCS en el entorno de procesamiento posletal con el fin de asegurar que *L. monocytogenes* o un organismo indicador (normalmente *Listeria* spp.) no está presente en las superficies.
- a.2. Identificación de las condiciones en las que el establecimiento aplicará los procedimientos de “retención” y “test”, tras la detección de *L. monocytogenes* en FCS o un organismo indicador.
- a.3. Frecuencia de muestreo.
- a.4. Identificación del tamaño y localización de los puntos donde se tomarán las muestras.
- a.5. Inclusión de una explicación de por qué la frecuencia de los tests es suficiente para asegurar que se mantiene el control efectivo de *L. monocytogenes* o un organismo indicador.
- a.6. Un establecimiento que produzca productos loncheados, hot dog o similares, cuando detecte *L. monocytogenes* en las FCS (superficies en contacto directo con el alimento), debe incluir en las acciones correctoras la realización de nuevos tests de seguimiento en las FCS con mayor probabilidad de contaminación, incluyendo el área circundante para asegurar la efectividad de las medidas correctivas. Si se obtiene un 2º positivo, debe retener y no expedir producto del establecimiento hasta que se demuestre que se ha corregido el problema y, asimismo, debe incluir muestreos con nivel de confianza estadística que garanticen que los lotes no están contaminados o de forma alternativa usar un procedimiento destructivo para *L. monocytogenes*.

En esta tercera alternativa la frecuencia de muestreo (nº de muestras de superficies de contacto de la línea/año deberá ser mayor que en las alternativas anteriores dado que el rigor de los tratamientos o procesos se reduce desde la 1 a la 3. En el programa de muestreo se incluye una relación de los puntos de muestreo de superficies de contacto y que no son de contacto. Se tendrá en cuenta que las áreas de procesamiento de producto terminado (deshuese de jamones, loncheado ) son las de mayor riesgo de contaminación.

Lo mismo sucederá con los productos terminados que deben analizarse en cuanto a frecuencia de muestreo. Cuanta menor alternativa en número menor número de muestras.

Asimismo la Administración EE. UU. por medio del FSIS (FSIS Directive 10240.4, 2014a; FSIS Directive 5001, 2017) aplica los siguientes principios:

1. Un alimento listo para el consumo está contaminado si se detecta *L. monocytogenes* en el producto o ha sido producido sobre un FCS (superficie en contacto directo con el alimento) contaminada con *L. monocytogenes*. Los lotes de producción EE. UU. en los que, en analítica de autocontrol o control oficial, se haya detectado *L. monocytogenes*, no podrán ser destinados a la exportación a EE. UU., ni reprocesados para su posterior exportación a EE. UU.
2. Todas las industrias deben incluir la investigación de *L. monocytogenes* en productos y en los entornos de procesamiento posletal con la inclusión de FCS y NFC (superficies que no están en contacto directo con los alimentos).
3. Las industrias deben emplear una metodología en el muestreo y en el análisis con sensibilidad equivalente a la utilizada por el FSIS. Respecto a la toma de muestras en FCS y NFC no se podrá emplear el hisopo, sino que deberá emplearse toallita o esponja. Asimismo, el método analítico deberá corresponder con un método validado, aprobado o adoptado por una organización internacionalmente reconocida (FSIS, ISO, AOAC) que incluirá preenriquecimiento (recuperación de cualquier célula dañada subletalmente y que permita detectar el crecimiento de un número muy bajo de *L. monocytogenes*).
4. Las industrias deberán desarrollar las acciones correctoras ante la detección de *L. monocytogenes* en producto LPC en superficies de contacto directo FCS y NFC en el entorno de procesamiento posletal, con independencia de producción de lotes EE. UU. y

de la UE. Tras estas acciones, se procederá a la verificación oficial (Subdirección General de Sanidad Exterior —SGSE—, 2012).

#### **2.7.2.1. Acuerdo ACTI (TTIP)**

Desde julio de 2013 se ha estado negociando un acuerdo comercial entre la UE y los EE. UU. Se denomina “Asociación Transatlántica para el Comercio y la Inversión (ATCI) (o en siglas inglesas (TTIP. Transatlantic Trade and Investment Partnership))”.

Este controvertido acuerdo entre EE. UU. y la UE comenzó a gestarse en junio de 2013 como un proyecto político y económico de extraordinaria magnitud (800 millones de consumidores) mediante el mandato de los gobiernos de la UE y de los EE. UU. a la comisión para negociarlo, y en octubre de 2016 concluyó la XV ronda negociadora en Nueva York.

Pretende una liberalización comercial a los dos lados del Atlántico tanto arancelaria como de requisitos que puedan suponer obstáculos técnicos al comercio. El campo de la seguridad alimentaria se ubicaría en el segundo pilar del acuerdo que trata los “aspectos regulatorios” y sus metas son la cooperación y la coherencia regulatoria. Se ha avanzado bastante en este pilar y se propone una estructura común entre ambos bloques comerciales que facilite la cooperación futura.

Los detractores aducen que se pretende impulsar el libre comercio a costa de la seguridad alimentaria y señalan la utilización de hormonas, el uso de transgénicos, la autorización de determinados plaguicidas, la descontaminación con radiaciones ionizantes o la hipercloración de la carne de aves como puntos de conflicto sanitario que la Unión Europea debería admitir.

Los impulsores aseguran que las medidas sanitarias y fitosanitarias no deben crear barreras innecesarias al comercio y que supone una magnífica oportunidad para los productores europeos, también para las *Pymes* al ampliar sus expectativas comerciales.

Tras una primera fase con poca información pasó a ser negociado en el Parlamento Europeo, con los operadores económicos, las asociaciones de consumidores y el público en general.

Parece indispensable y así se manifiesta que los organismos internacionales como FAO/OMS, WTO/OMC, OIE y los acuerdos propiciados por los mismos como el SPS de medidas sanitarias y fitosanitaria o el IPPC sobre la protección de los vegetales y, por supuesto, el OTC/TBT sobre obstáculos técnicos al comercio adquieran mayor relevancia y se refuercen como puntos de cooperación y resolución de conflictos.



En el caso que nos ocupa del control de *Listeria monocytogenes* por los fabricantes de productos cárnicos listos para el consumo, la situación se aprecia desde un punto de vista más optimista dado que las exigencias de tolerancia “cero” que nos impone EE. UU. deberían ser menos estrictas y admitir la equivalencia con nuestra normativa interna o al menos flexibilizar la postura actual.

Dos sucesos han ensombrecido, y de momento, congelado este proceso negociador. Por un lado el Brexit británico como movimiento centrífugo poco favorecedor teniendo en cuenta que el 25 % de las exportaciones de EE. UU. tienen como destino Gran Bretaña y, por otro, la nueva administración norteamericana que, desde su toma de posesión, en enero de 2017, anuncia y toma medidas proteccionistas en el ámbito comercial favorecedoras de la bilateralidad y contrarias a los grandes acuerdos comerciales multilaterales. Por lo tanto, la situación actual del acuerdo es de parálisis absoluta.

#### **2.7.2.2. Establecimientos españoles autorizados para exportar carne y/o productos cárnicos de porcino a los Estados Unidos de América**

Como datos generales que resumen la situación actual hay que subrayar que todos los establecimientos son de porcino. España dispone a fecha de agosto de 2017 de 24 autorizaciones de establecimientos cárnicos. Contamos con 5 mataderos que todos ellos tienen anexa sala de despiece y el resto son industrias cárnicas. Entre ellas 3 están ubicadas en Aragón, lo que supone un 12,5 % del total.

Todos los establecimientos (19) que exportan carne y productos cárnicos a EE. UU. deben estar autorizados por el FSIS. Los establecimientos que exportan productos cárnicos con los certificados modelos “A” y “C” deben estar además autorizados por el APHIS (Animal and Plant Health Inspection Service) y son ocho (5 específicos APHIS + 3 APHIS + MAPAMA-MSSSI). Son los que exportan jamón, paleta y lomo en pieza o loncheados procesados de acuerdo con el 94,17 del 9 CFR (CFR, 2012).

Finalmente el resto de los establecimientos ha recibido una autorización específica del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA) y del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI) en los que se recoge de forma explícita la prohibición de abastecerse de animales o productos de origen animal procedentes de países considerados por APHIS como infectados por fiebre aftosa, peste bovina, peste porcina africana, peste porcina clásica o enfermedad vesicular porcina (son 16).

Hemos visto que los EE. UU. suponen el mayor nivel de exigencia frente a nuestros productos cárnicos y además sus criterios son tomados como modelo por otros países terceros con mayor o menor similitud. Se identifica la autorización para vender en el mercado norteamericano con el mayor nivel de seguridad alimentaria certificado. Esta autorización, aunque no suponga unas elevadas transacciones, abre la puerta de muchos mercados por su reconocimiento internacional. Seguidamente, se reproducen los establecimientos autorizados para exportar a los Estados Unidos de América (Tabla 7) (MAPAMA, 2017a).

Tabla 7. Establecimientos españoles autorizados para exportar carne y/o productos cárnicos de porcino a los Estados Unidos de América (enero 2017)

<b>I. Establecimientos autorizados por el USDA (Dpto. de Agricultura de Estados Unidos)</b>		
<b>A) <sup>(1)</sup> Autorizados por el Food Safety Inspection Service (FSIS)</b>		
<b>Empresa</b>	<b>Localidad</b>	<b>Actividad</b>
1. Campofrío Food Group S.A.	Torrijos (Toledo)	Industria cárnica
2. Campofrío Food Group S.A.	Villímar (Burgos)	Industria cárnica
3. Comercial Logística de Calamocha, S.L.	Calamocha (Teruel)	Industria cárnica
4. Sociedad Cooperativa Valle de los Pedroches. Covap	Pozo Blanco (Córdoba)	Industria cárnica *
5. Sociedad Cooperativa Valle de los Pedroches. Covap	Pozo Blanco (Córdoba)	Matadero/ Sala de despiece *
6. Embutidos Fermín, S.L.	Tamames (Salamanca)	Sala de despiece/ industria cárnica *
7. Embutidos Fermín, S.R.L.	La Alberca (Salamanca)	Matadero/sala de despiece/ industria cárnica *
8. Esteban Espuña, S.A.	Utrillas (Teruel)	Industria cárnica *
9. Frigoríficos Costa Brava S.A.	Riudellots de la Selva (Girona)	Matadero/sala de despiece *
10. Industrias Cárnicas El Rasillo S.A.	El Rasillo (La Rioja)	Industria cárnica
11. Jamcal Alimentación, S.A.	Calamocha (Teruel)	Industria cárnica
12. Marcos Sotoserrano, S.L.U.	Sotoserrano (Salamanca)	Industria cárnica *
13. Matadero Frigorífico de Fuentes, El Navazo S.L.	Fuentes de Béjar (Salamanca)	Matadero/sala de despiece/industria cárnica *
14. Grupo Alimentario Naturiber, S.A.	Fuenterroble de Salvatierra (Salamanca)	Industria cárnica *
15. Grupo Empresarial Palacios Alimentación S.A.	Albelda de Iregua (Logroño)	Industria cárnica *
16. Patel S.A.U.	Sta. María de Corco (Barcelona)	Matadero/sala de despiece *

17. Pernils Llémene, S.A.	Sant Aniol de Finestres (Girona)	Industria cárnica *
18. Redondo Iglesias, S.A.	Utiel (Valencia)	Industria cárnica *
19. Señorío de Olivenza S.L.	Olivenza (Badajoz)	Industria cárnica *
20. Apa Processing, S.L.	Barcelona	Industria cárnica *
21. Jamones de Serón. Cortijo de Canata, S.L.	Serón (Almería)	Industria cárnica *
22. Redondo Iglesias, S.A.U.	Quart de Poblet (Valencia)	Industria cárnica *
23. Novafrigsa, S.A.	Lugo	Industria cárnica *
24. Sánchez Romero Carvajal Jabugo, S.A.	Jabugo (Huelva)	Industria cárnica *
* Establecimiento con autorización específica MAPAMA-MSSSI. Establecimientos que han recibido una autorización específica del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente y del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, en la que se recoge de forma explícita la prohibición de abastecerse de animales o productos de origen animal procedentes de países considerados por APHIS como infectados por fiebre aftosa, peste bovina, peste porcina africana, peste porcina clásica o enfermedad vesicular porcina.		
B) <sup>(2)</sup> Autorizados por el Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS)		
Empresa	Localidad	Actividad
1. Campofrío Food Group S.A.	Torrijos (Toledo)	Industria cárnica
2. Campofrío Food Group S.A.	Villímar (Burgos)	Industria cárnica
3. Comercial Logística de Calamocha, S.L.	Calamocha (Teruel)	Industria cárnica
4. Esteban Espuña, S.A.	Utrillas (Teruel)	Industria canica
5. Industrias Cárnicas El Rasillo S.A.	El Rasillo (La Rioja)	Industria cárnica
6. Jamcal Alimentación, S.A.,	Calamocha (Teruel)	Industria cárnica
7. Redondo Iglesias, S.A.	Utiel (Valencia)	Industria cárnica
8. Pernils de Llémene, S.A.	Sant Aniol de Finestres (Girona)	Industria cárnica
<sup>(2)</sup> : Los establecimientos que exporten productos cárnicos con los certificados Modelos “A” y “C” deben estar también autorizados por el APHIS.		

### 2.7.3. Requerimientos en Canadá

En el marco del acuerdo de equivalencia entre la UE y Canadá, la Canadian Food Inspection Agency (CFIA) establece la posibilidad de autorización de los establecimientos a propuesta de las autoridades españolas en base al cumplimiento de la normativa comunitaria y de la normativa canadiense.

Existe una lista de establecimientos españoles autorizados por la CFIA para exportar carne y productos cárnicos de porcino a Canadá. Actualmente son 165 establecimientos, de los que 11 son aragoneses (6,7 %). Deben ser propuestos por el MAPAMA y autorizados por el CFIA.

Estas industrias además de cumplir la normativa de la UE en materia de salud pública y sanidad animal tendrán que:

- Disponer de un PNCH.
- Disponer de un plan APPCC validado cuya implantación haya sido auditada por las autoridades de control oficial.
- Con respecto a los productos LPC deben de cumplir con el documento “Policy on *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Foods (2011)” (Política sobre *Listeria monocytogenes* en los alimentos listos para consumo). Este escrito reposa sobre las buenas prácticas de fabricación (BPF) y los principios del sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) (Health Canada, 2011).

El “Policy on *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Foods”, señala unos criterios de cumplimiento para el control de la bacteria, según el riesgo de los alimentos LPC en función del riesgo para el consumidor; diferenciando dos categorías:

**Categoría 1:** producto LPC que puede favorecer el crecimiento de *Listeria monocytogenes*. Estos productos deben recibir la más alta prioridad para la verificación y control de la industria, así como las actividades de supervisión y cumplimiento normativo. El criterio en estos es “ausencia en 25 g”.

**Categoría 2:** productos LPC no favorecedores de crecimiento de *L. monocytogenes*, con 2 categorías:

**2A:** producto LPC donde el crecimiento de *L. monocytogenes* está limitado a 100 ufc/g durante la vida útil.

**2B:** producto LPC que no favorece el crecimiento de *L. monocytogenes* a lo largo de la vida útil ( $\text{pH} < 4,4$  o  $a_w < 0,92$ ; o bien,  $\text{pH} < 5$  y  $a_w < 0,94$ ) y también los LPC almacenados en congelación hasta su consumo.

Los elementos más relevantes del sistema de autocontrol son los siguientes:

- Estudios de vida útil y/o modelos predictivos validados en la categoría 2A.
- Estudios de vida útil/caracterización de parámetros fisicoquímicos ( $a_w$  y pH)/tratamientos de letalidad en la categoría 2B.

Quedan encuadrados en la categoría 1, de mayor riesgo, todas las empresas que no puedan evidenciar los aspectos detallados en las categorías 2 A y 2 B.

Todas las categorías deben incluir:

- La investigación de *Listeria* en superficies y áreas de trabajo y en productos con inclusión de: pruebas de verificación de las superficies en contacto directo con los alimentos (FCS), mejor en operacional.
- Acciones correctoras ante la detección de positivos en FCS.
- Verificación de producto ante detección de positivos en FCS (para la evaluación del lote, el tamaño de la muestra ha de ser superior en los productos de la categoría 1).
- Pruebas de verificación en superficies que no son de contacto directo con los alimentos (NFC), en este caso cuando se detecte la presencia se debe reforzar el muestreo.

Tras la autorización los establecimientos tendrán en cuenta que solo podrán utilizar materia prima procedente de establecimientos autorizados (MAPAMA, 2017b).

Salta a la vista la similitud con nuestra reglamentación interna en la UE. Teniendo en cuenta que el sistema de seguridad alimentaria canadiense está muy influenciado por el de los EE. UU., tanto en cuanto a criterios como en acciones a tomar, supone una flexibilización que permite acceder a este mercado con las debidas garantías.

Por otra parte, incluyen unos mínimos en lo referente a producción y tratamientos que viene reflejado en los certificados ASE (acuerdos sanitarios de exportación).

- Jamón curado con un mínimo de 400 días y con detalles de tiempo, temperatura, humedad relativa, concentración de sal en todas las fases.
- Embutidos crudos curados con un mínimo de 30 días de curación.
- Productos cárnicos cocidos con un tratamiento de 70°C durante al menos 30 min en el centro del producto.

#### 2.7.4. Requerimientos en el Estado de Japón

España está autorizada a exportar a Japón carne y productos cárnicos de porcino desde el 9 de febrero de 1999. Con relación a estos últimos, los principales productos exportados son jamones, paletas y embutidos crudos curados.

Se trataba de otro de los países defensores de la política de tolerancia “cero” frente a *Listeria monocytogenes*. Además sus criterios tenían una gran influencia en el área asiática.

De acuerdo a la normativa sanitaria japonesa, la detección de *Listeria monocytogenes* en los productos cárnicos listos para consumo no sometidos a tratamiento térmico constituía un incumplimiento de la sección 3; del artículo 26; de la Ley de Seguridad Alimentaria en Japón.

Además la detección de un positivo conllevaba normalmente la paralización de las exportaciones, y la recuperación del estatus de establecimiento autorizado para exportar productos cárnicos a Japón resultaba sumamente costosa (60 muestras posteriores negativas). Se especifican a continuación estas consecuencias:

- Consecuencias de un resultado de presencia de *L. monocytogenes*.
  1. Se someten a control reforzado los siguientes envíos.
  2. Teníamos muchas industrias españolas en este régimen del que resulta muy complicado salir.
  3. Suele acarrear la suspensión cautelar de los certificados de exportación.
  4. Influencia de Japón en los interesantes mercados del Sudeste Asiático.
- Exigencias de las autoridades sanitarias japonesas ante un positivo a *L. monocytogenes*.
  1. Resultados de la investigación oficial de las causas del incidente.
  2. Situación anterior a la detección del problema (materiales, producción, equipos, análisis y autocontrol), basados en inspecciones o auditorías anteriores.
  3. Medidas adoptadas para evitar la reaparición de *Listeria*.
  4. Verificación de las medidas adoptadas.
  5. Revisión *a posteriori*. Revisión oficial del nuevo sistema de control de *L. monocytogenes*.
  6. Resultados de los análisis del producto tras las modificaciones (60 lotes).

## 7. Metodología técnica de análisis: muestreo y método analítico.

Este criterio normativo se revisó por parte de las autoridades japonesas tomando como base el artículo 11; apartado 1; de la Ley de Seguridad Alimentaria de Japón y desde el 26/01/2015 se admite que el criterio para los productos cárnicos LPC no tratados térmicamente tenga por límite en producto final menos de 100 ufc/g.

Las estrategias para el control de *Listeria monocytogenes* pueden adoptarse en el sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) o en el programa normalizado de control de la higiene (PNCH) que, como establecimientos autorizados para exportar a Japón, deben disponer, aplicar y mantener.

### 2.7.4.1. Autorización para exportar productos cárnicos LPC a Japón

Para la exportación de carne y productos cárnicos de porcino destinados al consumo humano a Japón, se establece la obligatoriedad de que los establecimientos estén previamente autorizados. Actualmente (abril 2017) lo están 324 en España de los que 18 son aragoneses (5,6 %) (MAPAMA, 2017c).

Conforme a lo anterior, los establecimientos interesados en ser autorizados para este mercado deberán cursar su solicitud según lo establecido en el procedimiento de solicitud de inclusión en listas de establecimientos autorizados para exportar productos de origen animal destinados al consumo humano a terceros países (CEXGAN, 2017), teniendo en cuenta, asimismo, la información que se indica a continuación:

Ámbito de aplicación:

- Carne y productos cárnicos de porcino.
- Este requisito se aplica a todos aquellos establecimientos que intervienen en el proceso de elaboración del producto que se pretende exportar a ese país (matadero, sala de despiece, industria cárnica, almacén frigorífico y centro de reenvasado), pudiendo autorizarse para un mismo establecimiento más de una de las actividades de las que se requiere trazabilidad.

Los establecimientos, para ser autorizados, deberán:

- Cumplir la normativa de la Unión Europea vigente en materia de salud pública y de sanidad animal.

- Disponer, aplicar y mantener un plan normalizado de control regular de la higiene (PNCH).
- Disponer de un sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) validado cuya implementación haya sido auditada por las autoridades de control oficial.
- Cumplir con la nota informativa de criterios microbiológicos para la exportación a Japón que por su importancia transcribimos a continuación.

**2.7.4.2. Nota Informativa sobre la modificación de los criterios microbiológicos para la detección de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos y quesos no tratados térmicamente** (válido desde el 26 de Enero de 2015)

Las autoridades japonesas del Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar (Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW)) han publicado la aprobación del cambio de normativa con relación a los criterios microbiológicos de *Listeria monocytogenes* máximos admitidos en los alimentos no tratados térmicamente.

Basándose en la cláusula 1.ª; del artículo 11; de la Ley de Seguridad Alimentaria de Japón de 1947 a través de la cual pueden modificarse especificaciones y estándares individuales referentes a alimentos.

**Aplicación:**

Esta modificación de la normativa se aplica a:

- Productos cárnicos no tratados térmicamente.
- Quesos naturales blando y semiduro (se categorizan en: blando, semiduro, duro y muy duro).

No aplicable a los productos tratados térmicamente después de envasados porque el peligro de *L. monocytogenes* está eliminado.

**Criterio microbiológico:**

El recuento de *L. monocytogenes* en el producto final debe ser inferior a 100 ufc/g.

**Análisis:**

Para comprobar el cumplimiento del criterio, se realizarán dos determinaciones:



- Cualitativo: investigación de *L. monocytogenes* en 25 g (la única que hasta ahora se efectuaba). Si esta es positiva se hará el recuento de la bacteria.
- Cuantitativo: recuento de *L. monocytogenes*. Si se superan las 100 ufc/g, o se destruirá la mercancía o se repatriará a destino.

Los gastos de estas analíticas se repercutirán al exportador.

Como puede comprobarse el cambio vigente afecta a la mayor parte de los productos cárnicos LPC que exportamos a Japón como jamón (en piezas, mazas o loncheados); lomo ibérico y embutidos crudos curados suponiendo una flexibilización de sus normas importantísima y un reconocimiento de equivalencia a los criterios microbiológicos vigentes en la Unión Europea.

#### 2.7.4.3. Control de *Listeria monocytogenes*

Los establecimientos que elaboren productos cárnicos crudos listos para consumo destinados a ser exportados a Japón deben contemplar en sus sistemas de autocontrol medidas dirigidas a cumplir con los requisitos de este país. Ello es especialmente importante en lo que se refiere a *L. monocytogenes*, por ser este patógeno el que ha motivado la mayoría de rechazos de productos cárnicos procedentes de nuestro país en la frontera japonesa.

Las estrategias para el control de *L. monocytogenes* pueden adoptarse en los procedimientos de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) o en los procedimientos normalizados de control de la higiene (PNCH) que, como establecimientos autorizados a exportar a Japón, deben disponer, aplicar y mantener.

Las alternativas de control pueden contemplar:

- La inclusión de tratamientos de letalidad (PCC).
- La evaluación de la eficacia del proceso como agente antimicrobiano.
- El control de la higiene.
- La evaluación de los procedimientos normalizados de control de la higiene incluyendo *Listeria* spp. o *L. monocytogenes* en los programas de muestreo de áreas de trabajo, equipos y utensilios, etc., en función de las decisiones que el operador adopte en su sistema de autocontrol.

En conjunto, estas estrategias deben proporcionar garantías de que la presencia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos listos para el consumo se mantiene dentro de los valores aceptables.

#### **2.7.4.4. Conservación de productos cárnicos listos para el consumo con destino a la exportación a Japón**

1. Productos cárnicos no tratados con calor. Deberán almacenarse a temperaturas inferiores a 10°C. Esto no es aplicable a los productos cárnicos en la etapa de bodega, por cuanto esta fase constituye una etapa dentro del proceso de elaboración. El requisito de conservación, a temperaturas  $\leq 10^{\circ}\text{C}$  se aplica a la expedición y en el tránsito de productos a Japón.
2. Productos cárnicos tratados térmicamente específicos (en función del valor de la  $a_w$ ):
  - $a_w < 0.95$ : se almacenarán a temperaturas  $< 10^{\circ}\text{C}$ .
  - $a_w > 0.95$ : se almacenarán a temperaturas  $< 4^{\circ}\text{C}$ .
3. Productos cárnicos tratados por calor. Se almacenarán a temperaturas  $< 10^{\circ}\text{C}$ . Este requisito no se aplicará a productos sometidos a esterilización en recipientes herméticamente cerrados de 120°C durante 4 minutos en el centro de la pieza o tratamiento térmico alternativo equivalente o superior.

#### **2.7.5. Requerimientos en la Unión Económica Euroasiática: Federación de Rusia, República de Bielorrusia, República de Kazajistán, República de Armenia y República de Kirguistán**

Inicialmente la Federación Rusa, después la Unión Aduanera de Eurasia (UA) y posteriormente la Unión Económica Euroasiática constituida por la Federación de Rusia, la República de Bielorrusia, la República de Kazajistán, la República de Armenia y la República de Kirguistán, han supuesto un destino muy importante para las exportaciones cárnicas españolas y, por supuesto, para las aragonesas tanto en volumen como en variedad de productos.

El funcionamiento de estas exportaciones era a través de listas de establecimientos autorizados. Las autoridades sanitarias rusas auditaban con cierta frecuencia estos establecimientos. En las auditorías de 2008 y 2010 realizadas por la Federación rusa se señalan algunas no conformidades y también en los controles en destino, que efectúan sobre los productos españoles, detectan incumplimientos a los criterios microbiológicos y a los residuos o contaminantes previstos

en su normativa. A raíz de una nueva auditoría en marzo de 2013 se restringieron las exportaciones a la UA desde el 18 de abril de ese año, y de una manera concreta a los establecimientos autorizados cárnicos, lácteos y de la pesca, de forma casi general. Únicamente 4 empresas (2 en Andalucía y 2 en Castilla-La Mancha) conservan la autorización (MAPAMA, 2013). Las principales razones esgrimidas fueron:

- Desconocimiento de la normativa de la UA aplicable tanto por los operadores como por el control oficial.
- Falta de formación por ambas partes en esta materia.
- No analizar parámetros incluidos en su legislación.
- Carencias en instalaciones y equipos.
- No adecuar nuestros sistemas de inspección a sus requerimientos.
- Problemas en identificación de lotes con destino la UA y carencias de protocolos de segregación cuando al mismo tiempo se produce con otros estándares.
- No aplicar algunos procedimientos para la UA imprescindibles, como la práctica de la termometría en establos durante la inspección ante mortem y la realización de necropsias.
- Carecer de un programa específico de muestreo para la UA.
- No utilizar siempre laboratorios acreditados por norma UNE-EN-ISO 17205 (UNE-EN-ISO 17025, 2005) y no expresar los resultados en las unidades previstas en su normativa.
- No respetar las frecuencias de análisis que ellos consideran.
- Carecer los análisis de la representatividad suficiente en relación al número de proveedores.

A partir de ese momento se inicia un gran esfuerzo de adaptación tanto de los operadores en su autocontrol como del control oficial en sus procedimientos no escatimando esfuerzos ni medios para llevar a cabo un plan de acción que corrija todas estas no conformidades. Se ponen en marcha algunas actuaciones como:

- Se traduce numerosa normativa de la UA.
- Se realizan multitud de cursos y actividades formativas.

- Se elaboran planes de autocontrol para la UA de los sectores cárnico, lácteo y de productos de la pesca cuyo componente principal es un muy ambicioso plan de muestreo. En lo referente a microbiología se muestrean los productos quincenalmente y el control oficial toma muestras bimensualmente.
- Se establece un listado de laboratorios acreditados por la norma ISO 17025 para todas las determinaciones requeridas por la UA y a ellos acuden tanto operadores como control oficial.
- Se adaptan las inspecciones ante mortem y post mortem a las exigencias UA, incorporando termometría y realización de necropsias.
- Se incrementa la representatividad de los controles para todos los proveedores de la UA.
- Se mejoran los procedimientos de segregación.

Debe subrayarse que los esfuerzos por recuperar esas autorizaciones han sido muy notables, también se ha trabajado en la vía diplomática, pero por el momento los resultados son nulos y las expectativas inciertas. No obstante, un gran número de establecimientos continúa realizando una ingente cantidad de análisis específicos para en un futuro intentar tener una buena posición de cara a la reincorporación o nueva incorporación como proveedor de la UA.

Es bien sabido, que este asunto trasciende el ámbito sanitario y se encuentra muy condicionado por el contexto político de la posición adoptada por la UE en el conflicto entre Ucrania y la Federación de Rusia. En esa línea hay que juzgar las tres disposiciones presidenciales que han bloqueado más, si cabe, las exportaciones procedentes de España y del resto de la UE como son: el Decreto presidencial 560 de 6 de agosto de 2014 prohibiéndolas por un año, el Decreto presidencial de 24 de junio de 2015 extendiendo la prohibición otro año y el Decreto presidencial 305, prolongando las medidas, al menos, hasta el 31/12/2017. Estos decretos detallan los productos a los que hacen referencia e incluyen además de las carnes frescas todos los productos cárnicos LPC que venían exportándose.

Consiguientemente tenemos una situación de bloqueo, unos industriales que aplican su autocontrol para la UA tomando una gran cantidad de muestras específicas y actuando según las exigencias que marca el autocontrol en caso de positivos, y un control oficial que también toma las muestras que le corresponden y realiza al menos dos auditorías anuales para evaluar su cumplimiento. Las autoridades de la UA mantienen la posición de que cuando el conflicto

se resuelva podrán incorporarse como proveedoras aquellas industrias con un histórico de cumplimiento de sus requisitos y esta expectativa hace que se continúe actuando como si nada ocurriera y asumiendo los costes que supone.

En el terreno sanitario la posición de la UA en cuanto al criterio microbiológico frente a *Listeria monocytogenes* es la más estricta de todas pues pide ausencia en 25 g para todos los productos, incluso para la carne fresca tanto refrigerada como congelada. Esta exigencia se considera absolutamente desmedida, pero hasta ahora no se admiten otras consideraciones ni puede ser objeto de negociación.

Se encuentra recogido el criterio para los productos cárnicos en dos normas fundamentales:

- Decisión de la UA nº 880, de 9 de diciembre de 2011, que aprueba la Reglamentación técnica sobre seguridad de los alimentos (TR CU 021/2011), vigente a partir del 1 de julio de 2013.
- Reglamento técnico TR TS 034/2013 (Decisión 68 de 9 octubre de 2013) de la UA relativo a la seguridad de la carne y productos cárnicos.

En la Decisión de la UA nº 880, *L. monocytogenes* es un patógeno de los considerados en el anexo I del reglamento técnico. Los restantes patógenos son *Salmonella*, *Enterobacter sakazakii* (*Chronobacter* spp., en la UE), *Yersinia* spp. y las enterotoxinas estafilocócicas.

Como conclusiones, mercado cerrado, pero tolerancia “cero” para *Listeria monocytogenes*, incluso en la carne fresca.

#### 2.7.6. Requerimientos en la República de Sudáfrica

El procedimiento de autorización es el siguiente:

1. Formalización de solicitud a la Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria (DGSPA) del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA).
2. Revisión de la documentación por la DGSPA.
3. Revisión por la Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación (DGSPCI) del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI), que comprueba el

cumplimiento de los requisitos adicionales requiriendo información de la comunidad autónoma.

4. Informe preceptivo y vinculante de la DGSPCI (MSSSI) que se envía a la DGSPA (MAPAMA).
5. Si en el plazo de 4 meses de la solicitud no se ha contestado se entiende estimada.
6. Tramitación por la DGSPA (MAPAMA) de la propuesta de autorización del establecimiento ante el tercer país. Concretamente ante el DAFF (Department of Agriculture, Forestry and Fisheries).
7. Aprobación o denegación por el DAFF. Comunicación al interesado por la DGSPA (MAPAMA).
8. Resolución de autorización. El establecimiento debe mantener los requisitos.

Las industrias cárnicas no requieren autorización expresa, pero sus proveedores deberán figurar en las listas de establecimientos autorizados.

En este momento existen 136 establecimientos autorizados para exportar carnes frescas (porcino y aves) de los que 11 son aragoneses suponiendo algo más del 8 % (MAPAMA, 2017d).

No hay requerimientos especiales para los productos cárnicos LPC.

En el certificado específico (ASE 1746) se establecen tiempos mínimos de maduración/curado para las salazones y productos cárnicos crudos curados. Estos son:

— Certificado ASE-1746 para productos cárnicos curados y desecados de porcino. Deberán haber alcanzado un  $\text{pH} \leq 5$ , o bien los siguientes tiempos de curado:

Jamón Ibérico	600 días
Paleta Ibérica	365 días
Jamón Serrano	210 días
Lomo	180 días
Chorizo o salchichón	180 días

### 2.7.7. Requerimientos en la República Popular de China (China)

Las industrias cárnicas españolas para poder exportar a la República Popular de China precisan estar autorizadas y registradas en el CNCA (Administración de Certificación y Acreditación de la República Popular de China) estando incluidas en la lista que este organismo elabora. Además, exigen formar parte de un registro obligatorio de exportadores. También están registrados los importadores chinos.

Se firmó el Protocolo en 2007 en Pekín que suponía el reconocimiento de España como país exportador. Hubo autorizaciones en 2008, 2010 y 2015. Estas autorizaciones precisan visita de inspección de los inspectores chinos que puede realizarse a una muestra representativa de establecimientos y no a todos los que se habían propuesto por parte del MAPAMA.

Actualmente figuran 28 industrias cárnicas de las que 3 son aragonesas (10,7 %) (MAPAMA, 2017e). El procedimiento de inclusión en listas sería idéntico al detallado para Sudáfrica y otros países terceros.

Las peculiaridades que un establecimiento que pretende exportar a China deberá tener en cuenta son:

- Cumplir la normativa de China y la Unión Europea en salud pública y sanidad animal.
- Tener implantado un programa normalizado de control de la higiene (PNCH).
- Los proveedores de materias primas también figurarán en listas de establecimientos autorizados. Deben ser establecimientos exclusivamente de porcino. Los comercializadores que únicamente ejercen el papel de exportadores, no deben aparecer en la lista.
- Los productos curados de larga duración deben curarse como mínimo de 313 días. Estos jamones y paletas deberán ser deshuesados y procesarse con esos tratamientos específicos, según establece el ASE-784 para carne y productos cárnicos curados de porcino. El jamón curado deshuesado para China no contendrá > 30 ppm de nitrito, verificándolo mediante sus sistemas de autocontrol.
- Hay un certificado complementario el MPG0815, para carne y productos cárnicos de porcino, exportados a China y que posteriormente se reexportarán a Japón. Estos deberán

cumplir la normativa sanitaria japonesa que es similar a la de la UE y, en lo referente a *L. monocytogenes* admite un límite microbiológico <100 ufc/g.

- Todos los productos exportados obtendrán un registro en el CNCA con ficha técnica, formato de expedición y etiqueta.
- Asimismo las autoridades sanitarias chinas, exigen un listado reducido de inspectores de control oficial habilitados para firmar los certificados de exportación de productos con destino a China.

### 2.7.8. Requerimientos en la República de Corea (Corea del Sur)

Los establecimientos acreditados para exportar a Corea del Sur deben ser autorizados por este país y, además, renovar anualmente dicha autorización para mantenerse en la lista de empresas autorizadas para exportar a Corea del Sur.

Las solicitudes de autorización y renovación se tramitan a través de los servicios veterinarios oficiales de la comunidad autónoma correspondiente y de la Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria (DGSPA) del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA), pero es la Animal and Plant Quarantine Agency (QIA) coreana quién las concede. El procedimiento de solicitud es igual que el de otros países terceros. En ocasiones, los inspectores coreanos, visitan directamente las plantas antes de dar su autorización, o bien lo hacen con la simple revisión de los cuestionarios, este doble procedimiento lo deciden las autoridades de este país.

Los establecimientos deben cumplir los requerimientos enumerados en el documento “Health Requirement for the Import of the Spanish Pork and Porcine Originated Products into the Republic of Korea” (Requisitos sanitarios para la importación de carne y productos cárnicos españoles en la República de Korea). Estos requerimientos están recogidos en los respectivos cuestionarios por actividades.

En el caso de los productos LPC el cuestionario a cumplimentar será el previsto para las plantas de elaboración y transformación. Debe ponerse especial cuidado en la exactitud de los datos de RGSEAA y en las actividades. Las observaciones estarán traducidas al inglés, lo mismo que la documentación solicitada (diagrama de flujos). En cada renovación anual volverá a cumplimentarse el cuestionario y enviarlo en las fechas establecidas. Estos cuestionarios serán satisfactorios en todos sus puntos y estarán validados por el Servicio Veterinario Oficial.



Este documento incide especialmente en:

- Evitar cruces zona limpia, zona sucia.
- Flujos de personal y de producto adecuados y bien definidos. Control de accesos.
- Programa normalizado de control de la higiene correctamente implantado. Se insiste mucho en ello.
- Evitar las condensaciones que puedan contaminar el producto.
- Mantenimiento de la cadena del frío.
- Formación del personal.
- Análisis de peligros y puntos de control crítico, particularmente la gestión de los PCC. Estará validado y auditado oficialmente.
- Trazabilidad individualizada por productos. Debido a esto, los productos amparados por el mismo certificado poseerán el mismo origen.

Actualmente están autorizados 149 establecimientos cárnicos de los que 12 son aragoneses (8 %). Todos ellos son de porcino (MAPAMA, 2016a). Todos los proveedores que intervienen en la cadena de producción hasta llegar al establecimiento que finalmente exporta también deben estar autorizados.

El certificado ASE-1813 es el utilizado para estos productos cárnicos de porcino y solo se permite que cada certificado incluya productos con la misma trazabilidad. Esto es importante para los grupajes (agrupamientos) porque si tienen diferente trazabilidad deberán figurar en certificados diferentes.

En definitiva, las peculiaridades que presenta Corea del Sur para los productos cárnicos LPC es que necesitan una autorización, tanto el establecimiento exportador como los proveedores y deben tener implantado un PNCH muy consistente. Además se constata en las inspecciones de misiones coreanas que siempre hacen referencia al control de *L. monocytogenes* y en particular: descripción de productos, estudios de vida útil, plan de limpieza y desinfección, política frente a condensaciones, registros del PNCH, demostración de que al final de la vida útil no se superará el límite reglamentario de 100 ufc/g y tratamiento de los positivos con acciones correctoras, estudio de causas y acciones preventivas que eviten la recurrencia.

### 2.7.9. Requerimientos en la República de Singapur

España está autorizada a exportar carne y productos cárnicos de porcino a Singapur, además de conservas de distintas especies.

Para ello es necesaria la autorización expresa del AVA (Agri Food and Veterinary Authority) de Singapur. Todos los establecimientos que participan en la cadena de producción tienen que estar autorizados y por consiguiente registrados.

Las industrias cárnicas elaboradoras de productos LPC cumplimentarán un cuestionario en inglés, visado por los servicios veterinarios oficiales, al que hay que añadir información complementaria: planos, boletines analíticos y copias de certificados de otros países a los que se exporta. También pide incluir reportaje fotográfico de la industria, del producto final con y sin envase y vídeo del proceso de producción.

La solicitud de autorización en España sigue el procedimiento habitual ya expuesto. Una vez llega la propuesta al AVA puede requerir documentación complementaria, realizar una autorización sobre base documental o bien decidir una auditoría *in situ* cuyos gastos corresponderán al operador/es candidato/s. En las ampliaciones de actividad no es necesario enviar todo el documento de nuevo, sino solo lo relacionado con el nuevo producto o proceso.

España cuenta en este momento con 76 establecimientos cárnicos autorizados, de los cuales 7 son aragoneses (9,2 %) (MAPAMA, 2017f).

En cuanto a las peculiaridades de este destino citaremos:

- El criterio microbiológico de la normativa de Singapur para productos LPC en cuanto a *Listeria monocytogenes* es muy exigente: ausencia en 25 g. No coincide con el criterio UE.
- Programa normalizado de control de la higiene. Requieren disponer, aplicar y mantener un plan consistente.
- Cumplimiento del estándar de aditivos de la normativa de Singapur.
- Que no se procese en el establecimiento carnes de rumiantes o, en todo caso, que se evidencie una completa separación de líneas y equipos de producción.
- Periodos de curación mínimos para los productos cárnicos LPC en salazón:

- Jamón curado serrano al menos 252 días de curado.
  - Jamón ibérico al menos 365 días de curado.
  - Paleta Ibérica al menos 252 días de curado.
  - Lomo curado ibérico/serrano al menos 90 días de curado.
- Tratamientos mínimos en productos cocidos LPC: 70°C durante 30 min o equivalente.
- En el ASE-1651 que certifica la exportación a Singapur de carne congelada de porcino y productos cárnicos de porcino, especifica las curaciones mínimas que hemos detallado y también que la carne congelada exportada no podrá tener una antigüedad mayor de 6 meses desde el sacrificio.

Nos encontramos con otro destino en el que el criterio microbiológico frente a *Listeria monocytogenes* es de ausencia en los productos LPC y que, por consiguiente, exige al operador unos controles muy eficaces que le permitan salvar esta dura barrera.

#### 2.7.10. Requerimientos en la República de Filipinas

El criterio de homologación que Filipinas exige para poder exportar carne y productos cárnicos de porcino es que el establecimiento esté incluido en la lista marco del MAPAMA. No exigen que todos los participantes en la cadena de producción lo estén, sino solo el que realiza la exportación.

El proceso que una industria interesada debe realizar es el siguiente:

1. Solicitud de inclusión en listas de establecimientos autorizados para exportar a Filipinas carne y productos cárnicos de porcino.
2. Elección de un importador autorizado por el NMIS de Filipinas (National Meat Inspection Service).
3. Registro de un nuevo producto. Por cada nuevo producto necesita un CPR (Certificate of Product Registration). Para conseguirlo se precisa una descripción pormenorizada e identificativa del producto en todas sus características, incluyendo certificado de libre venta en origen (CFS, Certificate of Free Sale). Estos certificados simplemente dicen que esos productos se venden libremente en origen y son aptos para el consumo. Es un

documento que solicitan muchos países terceros que no tienen negociados ASE (acuerdos sanitarios de exportación específicos).

4. Obtener para cada envío un certificado sanitario para la importación o VQC/SPS (Veterinary Quarantine Clearance/Sanitary and Phytosanitary). Estos certificados los obtiene el importador en el BAI (Bureau of Animal Industry).
5. Obtención del certificado ASE-1376 por parte del exportador.
6. Envío y despacho en aduanas.

Actualmente figuran en el listado para Filipinas 263 establecimientos de los cuales 18 son aragoneses lo que significa el 6,8 % (MAPAMA, 2017g).

Se trata de un sistema muy burocratizado. La exigencia de pertenencia a la lista marco ha sido sustituida por la inclusión en la lista de establecimientos autorizados. Tanto importador como exportador precisan de sus correspondientes certificados.

#### **2.7.11. Requerimientos en Malasia**

Existe obligación de que los establecimientos estén autorizados, pero solo afecta a los mataderos. Las salas de despiece, las industrias cárnicas y los almacenes frigoríficos pueden exportar sin necesidad de estar aprobados siempre que certifiquen que sus productos proceden de un matadero autorizado.

Los criterios de autorización para los mataderos son los siguientes:

- Cumplir la normativa de la UE en cuanto a salud pública y sanidad animal.
- Programa normalizado de control de la higiene conforme al documento Directrices de elaboración, aplicación y mantenimiento del PNCH (PNCH, 2010).
- Sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico validado y auditado por el control oficial.

El procedimiento para solicitar la autorización del matadero es el habitual cumplimentando el cuestionario “Application for Export Non Halal Pork Products to Malasia”. Debe cumplimentarse en inglés y aportar los anexos que solicita el propio documento: planos, boletines analíticos, certificados para otros países, reportaje fotográfico. El cuestionario ira visado por la firma de los

servicios veterinarios oficiales. En lo que respecta a productos cárnicos cocidos debe precisarse la combinación tiempo/temperatura usada en el tratamiento térmico.

Existe un certificado provisional de exportación de carne congelada de porcino y productos cárnicos de porcino a Malasia (DSP-3). Los envíos a Malasia deben ser directos, sin efectuar trasbordos.

En España existen 12 mataderos autorizados para exportar sus carnes a Malasia y 3 de ellos son aragoneses (25 %) (MAPAMA, 2016b).

En definitiva las peculiaridades de Malasia son la obligación de autorización de los mataderos proveedores y tener implantado el PNCH.

#### **2.7.12. Requerimientos en la República de China (Taiwán)**

En Septiembre de 2014 se ratifica el acuerdo de apertura del mercado taiwanés para todo tipo de productos de cárnicos de porcino. Únicamente para productos de esta especie elaborados con posterioridad a la fecha de autorización.

Deben estar autorizados específicamente. Implica visita de auditoría *in situ* para comprobar si se cumplen los requisitos europeos y taiwaneses. Se trata de visitas a una muestra representativa de las industrias. Todos los establecimientos de la cadena de producción deben estar autorizados. El organismo taiwanés que los autoriza es el BAPHIQ (Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine).

Existen dos certificados para enviar las carnes y productos cárnicos de porcino: el ASE 1639 y otro certificado complementario para carne de porcino que llega a Taiwán y luego será reexportada a Japón (MPG0 915). La etiqueta permitirá vincular productos y certificados. Este último certificado hace referencia al cumplimiento de la normativa sanitaria japonesa, que como sabemos en lo que respecta al control de *Listeria monocytogenes* es equivalente a la vigente en la Unión Europea desde hace poco tiempo. Estos países del sudeste asiático suelen, además de importar para el consumo propio, actuar como vías de entrada para otras zonas del continente.

En España hay en este momento 52 establecimientos autorizados y 2 de ellos son aragoneses (aproximadamente el 4 %) (MAPAMA, 2017h).

Los establecimientos interesados como requisitos fuera de la normativa comunitaria necesitan tener implantado el plan normalizado de control de higiene y obtener la autorización que les permita figurar en la lista.

#### **2.7.13. Requerimientos en la Región Administrativa Especial de Hong Kong**

Hay una lista de establecimientos para exportar carne fresca de ciervo y productos derivados del ciervo. Son 16 los autorizados, ninguno de ellos aragonés (MAPAMA, 2016c). Para porcino y aves los importadores obtienen licencias.

El organismo encargado de otorgar las licencias a los importadores es el Departamento de Higiene Alimentaria y Ambiental (Food and Environmental Hygiene Department-Hong Kong Special Administrative Region, FEHD-HKSAR). Necesitan obtener una autorización por escrito para cada partida enviada. En estas autorizaciones se especificarán todos los destinos de los productos tanto distribuidores como minoristas. Se realizan abundantes controles analíticos en destino. Hong Kong es un importante punto de entrada a China y otros países del sudeste asiático. La carga de la prueba se atribuye al importador.

Se dispone de tres certificados ASE: el 1716 para carne fresca de porcino, el 905 para carne fresca de aves de corral y el 1820, que es el indicado para los productos cárnicos. Consideran muy importante el mantenimiento de la cadena del frío y los precintos de la carga.

Cuando se realiza el primer envío se inmoviliza y muestrea hasta obtener resultados satisfactorios (liberación positiva). Posteriormente los controles en destino se realizan sin detener la mercancía. Siempre realizan la determinación de *Listeria monocytogenes* en los productos cárnicos.

#### **2.7.14. Requerimientos en la República Socialista de Vietnam**

Existe obligación de autorización previa. El procedimiento es el habitual. Debe autorizarse el establecimiento productor final, sea matadero, sala de despiece, industria de transformación o centro de reenvasado. No es necesario que toda la cadena esté autorizada.

Si se importan carnes para transformar en Vietnam y reexportar la carga de la prueba corresponde al importador vietnamita.

Los requisitos que deben cumplir son:

- Cumplir la normativa de la UE tanto en seguridad alimentaria como sanidad animal.
- Sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico validado y auditado por los servicios veterinarios oficiales.
- Formulario específico para exportar a Vietnam disponible en Comercio exterior ganadero (CEXGAN) en inglés y visado por los servicios veterinarios oficiales.

En dicho formulario debe haber una descripción detallada de las etapas y procedimientos de elaboración incluyendo tiempos de curado mínimos y relaciones tiempo/temperatura para los termoprocesados. También se adjuntará el cuadro de gestión del APPCC con detalle del control de los PCC.

Se utiliza el certificado ASE-1293 para carne y productos cárnicos de porcino a Vietnam y un certificado genérico para los productos cárnicos de ave.

España dispone ahora mismo de 150 establecimientos autorizados, de los cuales 11 son aragoneses suponiendo un 7,3 % del total (MAPAMA, 2017i).

Resumiendo: necesidad de autorización previa del productor final y descripción específica de los procedimientos de seguridad alimentaria para crudos curados, salazones, cocidos y patés.

#### **2.7.15. Requerimientos en los Estados Unidos Mexicanos**

Debe tenerse en cuenta que México utiliza unos sistemas de seguridad alimentaria inspirados en el modelo EE. UU. y que la Directiva del FSIS 5000,1 sobre verificación de la seguridad alimentaria de los establecimientos es tomada como referencia de forma constante haciendo alusiones a las alternativas que los fabricantes deben poner en práctica para el control de *Listeria monocytogenes*, aunque sin exigirlos de una manera taxativa a los países exportadores. Exige autorización para el elaborador final en productos listos para el consumo (LPC) y para los productores y manipuladores en carnes frescas.

Inició una evaluación del riesgo de establecimientos que pretendían venderle en 2002, luego continuaron con auditorías posteriores y fueron autorizando determinadas industrias. El sistema consiste en inspecciones *in situ* en las que se valora si se cumplen las normas TIF (Tipo de inspección federal).

Dos son los organismos importantes en estas autorizaciones:

- **SENASICA:** Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.
  - **SAGARPA:** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- El procedimiento de autorización en España es el habitual y es necesario que estén autorizados todos los intervinientes en la cadena de producción.

En este momento (marzo de 2017), España dispone de 173 industrias autorizadas de las que 8 son aragonesas suponiendo un 4,6 % (MAPAMA, 2017j). En mayo de 2015 el SENASICA prorrogó las actuales autorizaciones hasta el 31 de diciembre de 2018.

Los acuerdos sanitarios de exportación de los diferentes productos contienen precisiones que están relacionadas muy directamente con el control de *L. monocytogenes*. En concreto:

- ASE-1152 para el envío de patés (mousse, parfait y/o fuagrás): temperatura de al menos 60°C/10 min si tiene ingredientes aviares. Temperatura de al menos 80,5°C/3 min o bien 70°C/30 min si los ingredientes son porcinos.
- ASE-1150 para el envío de jamones y paletas madurados. Los procesos de maduración serán al menos de:
  - Jamón ibérico: 365 días.
  - Paleta ibérica: 240 días.
  - Jamón serrano y paleta curados: 180 días.
- ASE-1166 para el envío de embutidos madurados:
  - La relación entre contenido de agua y proteína en la parte más húmeda del producto será inferior a la relación 2,25:1 bajo la supervisión de los servicios veterinarios oficiales.
  - $\text{pH} \leq 4,4$  o bien
  - $a_w \leq 0,92$  o bien
  - $\text{pH} \leq 5$  y  $a_w \leq 0,94$ .

Es destacable que estos tres últimos criterios fisicoquímicos son exactamente iguales que los del R. 2073/2005 en la UE.



- ASE-1135 para el envío de embutidos cocidos de origen porcino: jamón, mortadelas, salchichas y otros embutidos con procesado térmico (69 °C/30 min o bien 80,5 °C/3 min en el centro del producto).
- ASE-1168 para el envío de corteza de cerdo. Totalmente cocida a una temperatura entre 125° y 150 °C/al menos 6 horas y anexando registros termográficos.
- ASE-1483 para envío de carne asada de cerdo (69 °C/30 min o bien 80,5 °C/3 min).
- ASE-1472 para envío de embutidos cocidos de origen porcino y aviar con contenido lácteo. Deben existir garantías de que no hay proteína de rumiantes y la única utilizable es láctea. Para porcino: 69 °C/30 min o bien 80,5 °C/3 min. Para aves: 60 °C/10 min.
- Certificado complementario para exportar carne y productos cárnicos a México que posteriormente serían reexportados a Japón, debiendo cumplir la normativa de este país.

Resumiendo diremos que México exige una autorización al establecimiento elaborador final de productos cárnicos de porcino curados y tratados térmicamente, un programa normalizado del control de la higiene, una descripción de los productos que incluya sus parámetros fisicoquímicos, particularmente pH y  $a_w$ , alcanzar unos tiempos mínimos de curación en salazones y crudos curados y unas combinaciones tiempo/temperatura en cocidos y disponer de un programa de control de *L. monocytogenes* en los elaboradores de productos LPC inspirado en la Directiva FSIS 5000,1 y que incluya una alternativa de control, procedimientos de muestreo, frecuencias, lugares, técnicas de laboratorio, acciones correctoras frente a positivos y verificación. Admiten los criterios UE, pero en sus auditorías consideran y valoran todos estos aspectos de forma muy positiva.

#### 2.7.16. Requerimientos en la República de Colombia

Los establecimientos exportadores productores finales deben estar homologados por el INVIMA (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos de la República de Colombia). Con anterioridad al 4 de mayo de 2007 era el ICA (Instituto Colombiano Agropecuario) el encargado de estas autorizaciones. Ahora se han actualizado los del ICA y para los nuevos candidatos existe un formulario único de solicitud para exportadores de carnes, productos cárnicos comestibles o derivados cárnicos. Se admiten productos porcinos y también aviares.

El procedimiento desde España es el habitual y este sistema de prelistado responde al acuerdo de libre comercio entre la UE, Colombia y Perú. Los requisitos son los habituales de cumplir la

normativa UE en salud pública y sanidad animal y tener implantado un sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico validado y auditado por los servicios veterinarios oficiales.

Con carácter general no hay inspección colombiana *in situ* previa a la autorización. El INVIMA puede quedar satisfecho con una auditoría documental o bien efectuar visita.

En la actualidad (marzo de 2017) en España hay 91 establecimientos autorizados de productos cárnicos curados y cocidos y 4 de ellos son aragoneses lo que supone el 4,4 % (INVIMA, 2017).

Considerando los diferentes ASE en vigor tenemos:

- ASE-1396 para enviar productos cárnicos madurados de porcino.

En él se deben especificar los periodos de curación/maduración según norma técnica específica. Los concreta en los enviados en pequeñas cantidades (hasta 6 kg) en el equipaje personal (365 días mínimo para el jamón ibérico deshuesado y envasado; 190 días para el jamón serrano deshuesado y envasado y 400 días para el jamón tipo Parma).

- ASE provisional para piel (corteza) de cerdo deshidratada destinada a consumo humano. Dispondrá de resultados negativos frente a patógenos y entre ellos *Listeria monocytogenes*.
- ASE provisional para cocidos o parcialmente cocidos (escaldados) de porcino. Excluye al jabalí y exigen unos tratamientos térmicos de 70 °C/10 min u 80 °C/3 min. Además los escaldados se harán según norma técnica específica.

#### 2.7.17. Requerimientos en la República Argentina

Existe un acuerdo de prelistado entre la Unión Europea (UE) y el SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). Es necesario que los establecimientos exportadores productores finales estén homologados y que el producto a exportar tenga un certificado sanitario (CASE) bilateral acordado entre ambos.

Los requisitos son cumplir las normas vigentes en la UE respecto a salud pública y sanidad animal y poseer un sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) validado y auditado por el control oficial. El procedimiento de autorización es el habitual.

En este momento (marzo de 2017) España dispone de 190 establecimientos autorizados de los que 7 son aragoneses (3,7 %) (CEXGAN-MAPAMA, 2017a).

Los certificados ASE que afectan a los productos cárnicos LPC son:

- ASE-502 para carnes, productos cárnicos curados y termoprocesados porcinos. Establece maduraciones mínimas que son de 20 días para unidades menores de 500 g y 30 días para mayores de 500 g en el caso de los embutidos. En el caso de los tratamientos térmicos al menos 56°C/60 min.
- ASE-1381 para productos y derivados cárnicos aviares termoprocesados. Los tratamientos térmicos deben especificarse y tomar como referencia los recomendados en el Código Terrestre de la Organización Mundial de Sanidad Animal (hasta 2003 se denominaba «Oficina Internacional de Epizootias»).

En resumen, los industriales que pretendan exportar a la República Argentina precisan estar autorizados, disponer de un APPCC validado y auditado oficialmente, observar los tiempos de curación mínimos en los productos cárnicos crudos curados y las relaciones tiempo temperatura en los termoprocesados para garantizar la ausencia de patógenos y, por supuesto entre ellos, *Listeria monocytogenes*.

#### 2.7.18. Requerimientos en la República Federativa de Brasil

Los establecimientos exportadores finales, para poder exportar a Brasil necesitan estar homologados por el DIPOA (Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal) de Brasil. A partir de 2007 Brasil reconoció el sistema de control oficial español para productos cárnicos crudos curados y cocidos de la especie porcina. La empresa debe contar con un importador en Brasil.

Los requisitos son el programa normalizado de control de la higiene (PNCH) que incluirá pruebas microbiológicas de verificación y un sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) validado y auditado por el control oficial.

El procedimiento presenta alguna peculiaridad. La industria interesada presenta la solicitud a la Subdirección General de Sanidad Exterior (SGSE) de la Dirección General de Salud Pública (DGSP). Irá acompañada de un cuestionario específico para el PNCH, la relación de productos a exportar visada por los servicios veterinarios oficiales y la relación de proveedores. La SGSE revisa la documentación y, en caso favorable, emite los correspondientes certificados. Con estos certificados el interesado se dirige a la Consejería de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de la Embajada de España en Brasilia para que tramite la homologación con el DIPOA. Además

de esa homologación deberá registrar las etiquetas de cada uno de los productos a exportar por la misma vía de la embajada. La diferencia fundamental en el procedimiento con otros países terceros es conseguir las certificaciones de las autoridades sanitarias españolas (SGSE) y posteriormente acudir a la embajada de forma directa.

El ASE-1934 es el indicado para los productos cárnicos porcinos con destino Brasil.

Los viajeros a Brasil podrán llevar un máximo de 10 kg de productos cárnicos industrializados, únicamente para consumo personal.

España dispone de 269 establecimientos autorizados para exportar carne y productos cárnicos a Brasil, de los que 11 son aragoneses significando un 4 % (MAPA, 2017).

Como resumen diremos que las industrias necesitan el PNCH que es evaluado con detalle, existe una lista de comprobación específica y las peculiaridades del procedimiento y del registro de etiquetas cumpliendo la normativa brasileña.

### **2.7.19. Requerimientos en la República de Chile**

Ateniéndonos al Acuerdo sobre Medidas Sanitarias y Fitosanitarias aplicable al comercio de animales, productos de origen animal, plantas, productos vegetales y otras mercancías, y sobre bienestar animal, vigente entre la UE y Chile (anexo IV del acuerdo de Asociación Chile-UE), la exportación a Chile de estos productos requiere la previa habilitación de los establecimientos elaboradores de los mismos. Los productos LPC de origen cárnico son sectores y subsectores autorizados por Chile en el marco de este acuerdo.

El procedimiento consiste en que la industria autorizada presente un formulario de registro que va visado por las autoridades de fiscalización (Departamento de Sanidad de la comunidad autónoma) y de Certificación (MAPAMA). Existen varios formularios de registro disponibles en Comercio exterior ganadero (CEXGAN) (ficha de inscripción 18 para elaboradores de tocino y cuero (corteza) de cerdo comestible, ficha 15 para carnes de todas las especies, ficha 20 para tripas). Estas fichas se presentarán al SAG (Servicio Agrícola y Ganadero de Chile) por el procedimiento habitual, pero con la garantía de que con los visados de las autoridades españolas reúnen las condiciones para ser habilitados.

Los ASE que deben emplearse son los siguientes:

- ASE-678 para productos cárnicos procesados de ave. En este certificado se precisará el tratamiento térmico que será al menos de 68 °C/30 min. También está vigente la Resolución SAG 2313/2003 modificada por la 5655/2006 que insiste en determinados aspectos de la sanidad animal, el envasado y el tratamiento térmico.
- ASE-677 para productos cárnicos procesados de cerdo. Establece una relación tiempo temperatura en el centro del producto y queda complementado por la Resolución SAG 24/2000, modificada por la 5653/2006 sobre exigencias sanitarias para la internación a Chile de productos cárnicos procesados de porcino, bovino y mezclas de ambos. Esta resolución divide estos productos procesados de porcino en 4 categorías:
  1. Procesados crudos o cecinas crudas frescas. Son aquellos que no han experimentado una disminución significativa de su pH y su  $a_w$  con respecto a la carne fresca.
  2. Procesados madurados o acidificados, ahumados o no. Tienen una disminución significativa de su pH y  $a_w$  con respecto a la carne fresca. Aquí encontramos el chorizo, el salami, el salchichón y la pasta de jamón.
  3. Procesados de maduración/curación larga. Sobre todo este grupo es para los jamones (jamón serrano, jamón ibérico, jamón de Parma y otros). Establece una curación mínima de 8 meses.
  4. Procesados cocidos o cecinas cocidas. El tratamiento térmico mínimo debe haber sido de 68 °C/30 min en el centro del producto.

En este momento España cuenta con 255 establecimientos habilitados, de los cuales 10 son aragoneses suponiendo un 3,92 % del total (SAG-MAPAMA, 2017).

Concluyendo Chile tiene un sistema de habilitación de establecimientos cárnicos en el marco de un acuerdo con la UE que ha permitido que multitud de industrias de la UE y, por supuesto, de España figuren en las listas del SAG. Sin embargo sus Resoluciones sobre la seguridad alimentaria de los productos cárnicos LPC hacen que estos tengan que estar perfectamente descritos, con sus características bioquímicas en picados crudos curados y salazones, así como con las combinaciones de tiempo/temperatura en los termoprocados que deberán figurar en el sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) como PCC. Estas exigencias están absolutamente relacionadas con el control de patógenos y por supuesto, de *Listeria monocytogenes*.

### **2.7.20. Requerimientos en la República de Panamá**

La exportación a República de Panamá esta recientemente regulada por el Acuerdo de Asociación UE-América Central (República de Costa Rica, República de El Salvador, República de Guatemala, República de Honduras, República de Nicaragua y República de Panamá). La UE envió en el primer trimestre de 2015 un listado de empresas interesadas en exportar productos a estos países según el anexo VII de este Acuerdo. Entre los productos contemplados encontramos en el punto 4, los productos a base de carne de todas las especies y en el punto 5, otros productos de origen animal destinados al consumo humano. Este envío suponía el primer paso para que estos países establecieran las condiciones de importación y de habilitación de los distintos establecimientos. Panamá aprobó el listado en septiembre de 2015.

Sin embargo, también estos países reconocían en el acuerdo el firme compromiso de no interrumpir el flujo comercial existente en la fase previa al acuerdo. Los autorizados antes continuarán exportando sin plazo.

Las industrias necesitan estar homologadas por el AUPSA (Autoridad Panameña de Seguridad de Alimentos) que debe aceptar los prelistados que el MAPAMA le envía.

El procedimiento de solicitud es el habitual. El AUPSA en su Resuelto AUPSA-DINAN-002-2012 para productos industrializados y procesados establece un listado extenso de productos de bajo riesgo exentos de requisitos. No hay autorización para bovino ni otras especies distintas del porcino y las aves.

Los requisitos son cumplir la normativa de salud pública y sanidad animal de la UE y tener un sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) validado y auditado por los servicios veterinarios oficiales. En principio no están previstas visitas de comprobación, pero se reservan el derecho a efectuarlas si así lo deciden.

Admiten certificados ASE genéricos para productos cárnicos de porcino y para productos cárnicos de ave.

En España en este momento (marzo de 2017) existen 249 establecimientos homologados, de los que 13 son aragoneses (5,22 %) (AUPSA, 2017).

En definitiva, necesidad de homologación y un APPCC validado que contemple con eficacia el control de los parámetros de seguridad alimentaria de los productos cárnicos crudos curados, cocidos y salazones.

En el próximo apartado (2.8.) comentaremos el procedimiento habitual, al que nos hemos referido en muchas ocasiones, para figurar en listas de países terceros que exigen este requerimiento.

#### **2.7.21. Requerimientos en la República de Costa Rica**

Como en el caso de Panamá, la exportación a la República de Costa Rica esta regulada por el Acuerdo de Asociación Unión Europea (UE)-América Central (AC). La UE envió en el primer trimestre de 2015 el listado de empresas interesadas en exportar y Costa Rica es uno de los países que ha aprobado el prelistado. No obstante, los establecimientos autorizados previamente al acuerdo han podido seguir exportando sin estar sometidos al plazo de vigencia del mismo.

En este momento (marzo de 2017) hay 163 establecimientos elaboradores de productos cárnicos listos para el consumo de porcino y ave, de los cuales 6 son aragoneses (9,7 %) (CEXGAN-MAPAMA, 2017b).

Los requisitos son estar previamente habilitado por el Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) de Costa Rica, cumplir la normativa de la UE en cuanto a salud pública y sanidad animal y disponer de un APPCC validado y auditado oficialmente. Con carácter general, no se requiere visita previa.

El certificado que debe acompañar los envíos es el ASE-1487 para carne y productos cárnicos de porcino y en él se contemplan las exigencias de curaciones mínimas de 190 días para jamones y paletas y temperaturas mínimas en el centro de los productos cárnicos cocidos de 70 °C.

#### **2.7.22. Requerimientos en la República de Nicaragua**

La República de Nicaragua es otro de los países firmantes del Acuerdo de Asociación Unión Europea (UE)-América Central (AC). En junio de 2016 Nicaragua confirmó la aprobación del listado y previamente no se interrumpió el habitual comercio de las empresas que ya venían importando desde España antes de la entrada en vigor del mismo.

En este momento (marzo de 2017) hay 187 establecimientos elaboradores de productos cárnicos listos para el consumo de porcino y ave, de los cuales 15 son aragoneses (8 %) (CEXGAN, 2016).

Los requisitos son estar homologado previamente y aceptar el sistema de prelistado, cumplir la normativa de la UE en cuanto a salud pública y sanidad animal y disponer de un APPCC



validado y auditado oficialmente. No se requiere con carácter general inspección *in situ*, aunque se reservan el derecho de hacerlo.

Admiten un certificado genérico como documento de acompañamiento de los productos cárnicos exportados.

#### **2.7.23. Requerimientos en la República Dominicana**

República Dominicana exige autorización previa para los establecimientos finales elaboradores de carnes frescas y preparados de carne de bovino, ovino, caprino y porcino. En este momento (marzo de 2017) hay 9 establecimientos españoles autorizados y ninguno de ellos es aragonés (CEXGAN-MAPAMA, 2017c). Los envíos procedentes de estos establecimientos van acompañados del ASE-1775 para carne fresca y preparados de carne de origen bovino, ovino, caprino y porcino. Estas autorizaciones implican visita de inspección *in situ* de una muestra representativa de los establecimientos solicitantes.

Para los establecimientos elaboradores finales que exporten productos cárnicos transformados no es preciso figurar en una lista específica, ni tampoco que los mataderos y/o salas de despiece que les suministran la materia prima lo estén.

Los envíos de productos cárnicos listos para el consumo (LPC) irán acompañados de un certificado genérico para alimentos.

#### **2.7.24. Requerimientos en el Estado Libre Asociado de Puerto Rico**

La relación de Puerto Rico con Estados Unidos de América es similar a la de uno de los 50 estados de la Unión y aunque posee una Constitución para el manejo de los asuntos internos, esta sujeto a los poderes plenos del Congreso estadounidense mediante la Cláusula Territorial. Normativamente le es aplicable el procedimiento de autorización de establecimientos para la exportación de carne y productos cárnicos a los EE. UU. y el reglamento sobre control de *Listeria monocytogenes* acogiéndose a una de las alternativas previstas y descritas en el epígrafe de los EE. UU. (2.7.2.).

Por tanto, se exige la autorización previa. El Food Safety and Inspection Service (FSIS) de EE. UU. ha delegado en el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI) esta competencia para productos cárnicos de porcino y para alimentos compuestos que contengan >3% de carne cruda de porcino o >2% de productos cárnicos de porcino. No es aplicable a los



elaboradores de conservas cárnicas de porcino, ya que España no está habilitada en este momento para aprobarlos. También necesitarán la autorización del Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) para exportar a EE. UU. productos curados de cerdo elaborados con carnes procedentes de países que no estén considerados libres de enfermedades.

No hay lista de establecimientos autorizados para exportar a Puerto Rico.

Los productos exportados deberán ir amparados por el correspondiente certificado ASE:

- Certificado provisional para jamón con hueso o deshuesado después del curado (Modelo A).
- Certificado provisional para envíos no comerciales de jamón con hueso o deshuesado después del curado (Modelo A2).
- Certificado provisional para envíos de productos cárnicos deshuesados antes del curado (Modelo B).
- Certificado provisional para envíos no comerciales de productos cárnicos deshuesados antes del curado (Modelo B2).
- Certificado provisional para jamón serrano loncheado y envasado (Modelo C).
- Certificado provisional para jamón cocido (Modelo D).
- ASE-754 de inspección de productos cárnicos.
- ASE-755 de inspección de carne y despojos comestibles.
- ASE-1200 de carne y productos cárnicos.

Como exigencias de proceso más relevantes reflejadas en estos certificados está el curado mínimo de 190 días para el jamón serrano, que la temperatura en el centro del producto en los tratados térmicamente será como mínimo de 69°C, que los productos cárnicos deshuesados habrán sufrido un mínimo de 3 días de refrigeración y un curado mínimo de 90 días y que en los loncheados figurarán en su etiqueta las fechas de salado, loncheado y envasado.

#### **2.7.25. Requerimientos en el Estado de Israel**

Solo autorizan establecimientos elaboradores de carne y productos cárnicos de bovino, ovino y caprino. Son establecimientos que manipulan y procesan carnes obtenidas por sacrificio ritual

religioso Kosher. Si esas mismas industrias tienen líneas de porcino deben estar completamente separadas para evitar cualquier posibilidad de contaminación cruzada.

En la lista de establecimientos autorizados figuran en este momento (marzo de 2017) 5 establecimientos y ninguno aragonés (MAPAMA, 2017k).

Los requisitos son disponer de planes de prerrequisitos (PPR); disponer aplicar y mantener un programa normalizado de control de la higiene (PNCH/SSOP); APPCC validado y auditado oficialmente; exigencias del rito Kosher en cuanto a bienestar animal y sacrificio; trazabilidad con, al menos, un ejercicio anual de verificación; programa de reducción de patógenos cumpliendo el Reglamento 2073/2005; revisiones previó y etiquetado.

Los certificados que deben amparar los envíos son el ASE-1756 para la carne fresca y carne picada de ovino y caprino y el ASE-1905 para la carne de bovino con hueso, la deshuesada y despojos.

#### **2.7.26. Requerimientos en el Reino de Arabia Saudita**

Solo autorizan establecimientos que elaboren carne y productos cárnicos de bovino, ovino y caprino y cuyas líneas de producción estén separadas completamente de las de porcino. Se trata de animales sacrificados mediante el rito islámico y con la correspondiente certificación Halal. La autorización la establece la Autoridad Saudí de Alimentos y Medicamentos (Saudi Food & Drug Authority/SFDA) y la referencia normativa la Organización de Normas del Golfo (Gulf Standard Organization/GFO).

En la lista de establecimientos autorizados figuran en este momento (marzo de 2017) 14 establecimientos y 2 son aragoneses (14,3 %) (MAPAMA-SFDA, 2016).

Los requerimientos son cumplir la normativa de la UE en sanidad animal y salud pública; disponer de un APPCC validado y auditado oficialmente; disponer, aplicar y mantener un programa normalizado de control de la higiene (PNCH) y respetar los límites máximos que establece su normativa para los contaminantes metálicos (mercurio 0,05 ppm; arsénico 0,5 ppm; cobre 20 ppm; plomo 10 ppm y cadmio 0,2 ppm). Prohíbe la importación de animales modificados genéticamente o sus productos.

Los envíos irán acompañados del ASE-1788 para carne y productos cárnicos de rumiantes.

### 2.7.27. Requerimientos en la República de Indonesia

La exportación de carne y productos cárnicos requiere autorización previa, para la que se realiza una evaluación documental y también visita *in situ*. Disponiendo de la misma pueden exportarse carne y productos cárnicos de vacuno y carne y productos cárnicos de porcino. Además se encuentran en negociación la carne y los productos cárnicos de ave.

En estos momentos (junio de 2017) en España hay solamente 3 establecimientos autorizados. De los mismos, 2 son de vacuno y 1 de porcino y ninguno es aragonés (CEXGAN-MAPAMA, 2017d).

Los requisitos son cumplir la normativa de la UE en sanidad animal y salud pública; disponer de un APPCC validado y auditado oficialmente; presentar a los servicios veterinarios oficiales los dosieres específicos de cada producto a exportar a Indonesia, para que procedan a validarlos y las certificaciones Halal en el caso del vacuno.

Los envíos irán acompañados del certificado ASE-1930 para carne y productos cárnicos. En este certificado se especifica si los productos cárnicos son curados o cocidos.

## 2.8. Procedimiento y requisitos de la certificación veterinaria oficial para la exportación

El nuevo Real Decreto 993/2014 establece el procedimiento y los requisitos de la certificación veterinaria oficial para la exportación y regula las condiciones que deben cumplir los establecimientos que desean exportar alimentos de origen animal o que contengan productos de origen animal a países terceros que exigen requisitos distintos y/o adicionales a los aplicables dentro de la UE. Distingue por tanto, países con requisitos asimilables a los aplicables en la UE y aquellos otros con requerimientos diferentes y/o adicionales.

Esta normativa responde al aumento de la actividad exportadora tanto en destinos, como en variedad de productos, como en cantidades exportadas y número de empresas exportadoras. El incremento del peso de la exportación en la economía de las empresas es constante y también aumenta la complejidad de la certificación. Esto obliga a adaptarse con el objetivo de afianzar y contribuir a expandir las exportaciones españolas de productos sujetos a certificación veterinaria observando dos premisas: menor carga administrativa y mejores garantías sanitarias y de salud pública.

Debido a su importancia en el campo de la exportación vamos a comentar las principales modificaciones que su implantación progresiva ha introducido.

### **2.8.1. Sistema de autocontrol específico (SAE)**

Comprende aquellos procedimientos que deben implantar las industrias que exportan productos de origen animal (POA) o productos que contengan ingredientes de origen animal, a países que exijan requisitos adicionales a los aplicables para los intercambios intracomunitarios y/o exijan la autorización previa de los establecimientos exportadores.

#### **2.8.1.1. Utilidad del SAE**

Trata de garantizar que cada partida enviada a estos países, cumple con los requisitos adicionales exigidos por dichos países, además de asegurar su composición exacta y su correcta trazabilidad.

El SAE debe estar certificado por un organismo independiente de control (OIC) autorizado. La lista de OIC autorizados es pública y se actualiza constantemente en la página de comercio exterior ganadero (CEXGAN). La validez de dicho certificado es de tres años, siempre que se sometan a las auditorías anuales de mantenimiento (los dos primeros años bianuales) y a una renovación al final de dicho periodo.

#### **2.8.1.2. Establecimientos que precisan un SAE certificado por un OIC**

Aquellos establecimientos productores finales de alimentos para consumo humano que realizan la última transformación o acondicionamiento del producto a exportar, antes de la expedición de la partida (definición del Real Decreto 993/2014; artículo 3; punto 2; letra g).

#### **2.8.1.3. Tipos de acuerdos sanitarios de exportación (ASE) que determinan diferentes niveles de autocontrol (SAE)**

Tipo I:

- Son requisitos específicos de salud pública, que hacen necesario obtener atestaciones sanitarias de los servicios veterinarios oficiales de las comunidades autónomas.
- La trazabilidad solicitada es equivalente a la de la UE.
- No se exige la autorización del resto de establecimientos intervinientes en la cadena de producción.
- No requieren un SAE certificado.

Tipo II:

- Requisitos específicos de salud pública (pueden no incluirlos).
- Trazabilidad hasta los establecimientos de producción primaria porque el certificado exige su identificación y puede incluso exigir que sean autorizados por el país también en calidad de proveedores (autorización de toda la cadena).

Tipo III:

- Requisitos específicos de salud pública (pueden no incluirlos).
- Trazabilidad hasta los establecimiento de producción primaria porque el certificado exige su identificación y puede incluso exigir que sean autorizados por el país también en calidad de proveedores (autorización de toda la cadena).
- Requisitos específicos de sanidad animal que hacen necesaria la obtención de atestaciones sanitarias sobre los animales o granjas de procedencia de la materia prima.

Los ASE de tipos II y III requieren un SAE certificado

#### **2.8.1.4. Elementos que componen un sistema de autocontrol específico (SAE)**

Como mínimo:

1. Identificación del responsable del mismo.
2. Comprobación de los requisitos específicos:
  - Procedimiento documentado de definición de especificaciones del producto en función del destino.
  - Procedimiento documentado de homologación de proveedores.
  - Procedimiento documentado de verificación de proveedores.
3. Procedimiento documentado de trazabilidad, identificación y segregación de la mercancía destinada a la exportación.
4. Procedimiento documentado de revisión del SAE.

#### **2.8.2. Lista marco**

El Real Decreto 265/2008 de 22 de febrero, estableció la lista marco de establecimientos registrados para la exportación de carne y productos cárnicos. Esta lista establecía una serie de

requisitos que se garantizaban mediante su permanencia en la lista y constituía un requisito imprescindible para algunos países terceros.

A la publicación de esta norma España tenía registradas 255 industrias, de las cuales 16 eran aragonesas (6,2 %). El nuevo Real Decreto ha derogado este registro tras superarse un periodo transitorio de 18 meses en junio de 2016. Durante este tiempo la inscripción en lista marco se ha considerado equivalente a la acreditación del sistema auditado de autocontroles específicos.

Estos son los cambios introducidos por el Real Decreto 993/2014, ya a día de hoy (agosto de 2017) en un alto grado de puesta en funcionamiento.

A continuación expondremos el procedimiento que deben seguir nuestros exportadores para, observando las especificaciones exigidas por los terceros países mediante los instrumentos que acabamos de señalar, figurar en las listas de establecimientos autorizados para exportar productos de origen animal destinados a consumo humano a terceros países.

## **2.9. Procedimiento de solicitud de inclusión en listas de establecimientos autorizados para exportar productos de origen animal destinados al consumo humano a terceros países**

### **2.9.1. Objetivo del procedimiento**

El presente procedimiento tiene como fin la aplicación efectiva del artículo 11 del Real Decreto 993/2014, en lo que respecta a la inclusión en listas específicas de los establecimientos elaboradores de productos de origen animal destinados al consumo humano que vayan a ser destinados a la exportación a terceros países, en los casos en los que el tercer país exija la existencia de una **lista específica de establecimientos autorizados para exportar**.

#### **2.9.1.1. Ámbito de aplicación**

Establecimiento elaborador final que pretenda solicitar autorización para exportar productos de origen animal destinados al consumo humano, así como otros establecimientos que intervengan en la cadena de producción (cuando así lo exija el país importador) para los países y productos detallados en el **Anexo I** de este procedimiento.

### 2.9.1.2. Descripción del procedimiento

1. Cursar solicitud a la Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria (DGSPA) del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA).

Los establecimientos españoles interesados en solicitar su inclusión en las listas de establecimientos autorizados para exportar productos destinados al consumo humano a los terceros países que exijan este requisito deberán solicitarlo a la DGSPA utilizando la aplicación CEXGAN (si no está registrado en CEXGAN como usuario, puede solicitarlo en la sede electrónica del MAPAMA). En la aplicación deberá cumplimentar:

a) **Formulario general de solicitud de inclusión en listas de establecimientos autorizados para exportar productos de origen animal destinados a consumo humano a terceros países** (según modelo disponible en CEXGAN y las instrucciones detalladas en este documento).

b) **Datos de la Certificación vigente emitida por un organismo independiente de control (OIC)** (en los casos en que sea exigible) que acredite que el establecimiento dispone de un sistema de autocontroles específicos (SAE) conforme a lo establecido en el artículo 11 del Real Decreto 993/2014.

— En el **Anexo I** de este procedimiento se detalla los casos en los que se exigirá un SAE certificado en función del destino y producto para el que se solicita autorización<sup>1</sup>.

Las solicitudes se presentarán **de forma electrónica a través de CEXGAN 2.0**, accediendo como usuario con perfil “Empresa”, en el apartado “Gestión”, opción “Solicitud listas terceros países”.

2. Revisión de la documentación anterior por la DGSPA (MAPAMA).

En el caso de que sea necesario algún documento o dato adicional, se le requerirá al solicitante mediante correo electrónico a la dirección de contacto que el solicitante haya

---

1 Los terceros países se reservan el derecho de inspeccionar los establecimientos solicitantes como condición previa a su autorización, así como de realizar supervisiones posteriores a establecimientos autorizados, quedando condicionada su autorización a los resultados de dicha visita. A este respecto, se informa que las empresas solicitantes deberán abonar los gastos generados como consecuencia de las actuaciones derivadas del proceso de supervisión que se realice por parte de las autoridades del tercer país, con independencia del resultado final de dicha auditoría.

comunicado en el formulario de solicitud. La DGSPA comprobará el cumplimiento de los requisitos adicionales, en materia de sanidad animal, en base a la certificación emitida por un OIC, en los casos en que sea exigible.

3. Tras la revisión favorable de la documentación por parte de la DGSPA (MAPAMA), la Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación (DGSPCI) del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI) comprobará el cumplimiento de los requisitos adicionales<sup>2</sup>, teniendo en cuenta las autorizaciones de que disponga el establecimiento en el marco de exportación a países terceros, el historial de cumplimiento de la legislación, la fiabilidad de los autocontroles, los informes, actas y registros de la autoridad competente de la comunidad autónoma.

Asimismo, en aquellos casos en los que el tercer país requiera el envío de **documentación complementaria específica** la CA procederá a su validación tras la revisión favorable de la misma, y remitirá a la DGSPCI toda la documentación requerida para continuar la tramitación.

4. En base a lo anterior, la DGSPCI (MSSSI) emitirá un informe preceptivo y vinculante que enviará a la DGSPA (MAPAMA).

Asimismo, cuando proceda, remitirá la documentación adicional validada por los SVO requerida para la tramitación ante los terceros países que así lo exigen.

5. Si en el plazo de 4 meses desde la presentación de la solicitud debidamente cumplimentada y acompañada de toda la documentación requerida no se notifica al establecimiento la denegación de su solicitud, se entenderá estimada su inclusión en la lista provisional (para su propuesta de autorización al tercer país).
6. Tramitación por la DGSPA (MAPAMA) de la propuesta de autorización del establecimiento ante el tercer país.
7. Tras la aprobación o denegación por parte del país tercero del establecimiento propuesto, la DGSPA (MAPAMA) dictará y notificará al interesado, con copia a la DGSPCI la **Resolución de autorización** para la exportación al tercer país, o bien comunicará al

---

2 Toda la información actualizada relacionada con este y otros procedimientos será publicada puntualmente en la página Web de Comercio Exterior Ganadero (CEXGAN) del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente ([http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/comercio-exterior-ganadero/comercio-exterior-ganadero-import-export-/establecimientos\\_autorizados.aspx](http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/comercio-exterior-ganadero/comercio-exterior-ganadero-import-export-/establecimientos_autorizados.aspx)).



establecimiento la desestimación de la autorización (o requerirá la subsanación de la documentación en caso de que así lo solicite el tercer país) en el plazo máximo de un mes desde la recepción de la respuesta por el país tercero.

8. Emitida la *Resolución de autorización* los establecimientos tendrán la obligación de mantener los requerimientos normativos establecidos por los países terceros siempre que se produzcan cambios en los procedimientos de inclusión específicos.

### 2.9.1.3. Instrucciones de cumplimentación en CEXGAN 2.0 del formulario general de solicitud

La empresa solicitante deberá cumplimentar el formulario con los datos correspondientes al establecimiento elaborador para el que solicita la autorización teniendo en cuenta las siguientes indicaciones:

- Se deberá realizar una solicitud por cada establecimiento con número de RGSEAA independiente. Podrá seleccionar el establecimiento en el menú de la funcionalidad de Solicitud Inclusión en listas de terceros países, utilizando alguno de los campos de búsqueda disponibles.
- La aplicación CEXGAN cargará los datos del establecimiento, conforme a los registrados en la base de datos de AECOSAN ([http://rgsa-web-aesan.msssi.es/rgsa/formulario\\_principal\\_js.jsp](http://rgsa-web-aesan.msssi.es/rgsa/formulario_principal_js.jsp)). Si los datos que figuran en AECOSAN no son correctos deberá contactar con los servicios oficiales de su comunidad autónoma para su modificación. Si los datos que CEXGAN carga por defecto no están actualizados, debe notificarlo al SAUS (servicio de atención al usuario) de CEXGAN.
- En sección “Datos a efectos de comunicación” cumplimentará los datos de la persona de contacto para comunicaciones relacionadas con la solicitud.
- En la sección “Datos representante legal”, seleccionando el establecimiento la aplicación cargará los datos del representante legal del establecimiento que está activo en CEXGAN. Si los datos no están actualizados, deberá solicitar su modificación a la DGSPA de acuerdo con el procedimiento disponible en la sede electrónica y la web de MAPAMA:  
  
<http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/comercio-exterior-ganadero/comercio-exterior-ganadero-import-export-/subarea-export.aspx>
- Seleccione el “Tipo de solicitud”:
  - Autorización en lista.

- Cambio de datos (del establecimiento). Deberá acreditarse documentalmente dicha modificación mediante la remisión de las escrituras de la empresa, poder notarial o cualquier otro documento que permita su verificación. Cuando dicho cambio afecten a los datos del establecimiento en el registro general sanitario de empresas alimentarias y alimentos (RGSEAA) únicamente será necesaria la comprobación de que las modificaciones son efectivas en las bases de datos de AECOSAN.
  - Modificación del alcance de la autorización (para establecimientos ya autorizados en una lista).
  - Exclusión del listado (para solicitar la baja de la lista).
- En la sección “Listas de productos-actividades” debe seleccionar de los combos desplegables el país, el producto que desea exportar, y la actividad para la que solicita autorización. Solo se muestran en los combos los valores para los que existe un procedimiento de solicitud activo.

Las actividades del establecimiento para las que solicita autorización en el combo deberán figurar como autorizadas en la base de datos del registro de establecimientos autorizados según normas UE, de AECOSAN ([http://rgsa-web-aesan.msssi.es/rgsa/formulario\\_ue\\_js.jsp](http://rgsa-web-aesan.msssi.es/rgsa/formulario_ue_js.jsp)), tal como se exige para la exportación a terceros países, salvo que se trate de actividades que no requieran registro de acuerdo con las especificaciones técnicas de la UE.

Cumplimente el campo “Descripción del producto”. En caso de que sea necesario incluir una lista amplia de productos puede incluirla como documento adjunto (sección “Añadir documentación”).

Una vez que ha añadido un país y un producto a la solicitud la aplicación le permitirá añadir nuevos productos para ese mismo país en la misma solicitud.

- Cumplimentar la Sección “Datos certificado emitido por OIC” cuando sea necesario disponer de un SAE certificado para solicitar la autorización por el tercer país. En el campo nº de certificado indique el nombre del OIC emisor y el número de serie del certificado.
- Marcar la casilla en la sección “Responsabilidad” si acepta las condiciones indicadas.
- Podrá adjuntar documentos a su solicitud en formato electrónico en la sección “Añadir documentación”.

## **Anexo I**

### **Ámbito de aplicación del procedimiento de solicitud de inclusión en listas de establecimientos autorizados para exportar productos de origen animal destinados al consumo humano a terceros países**

Para completar la información sobre los criterios de autorización específicos y la documentación adicional requerida para la solicitud de inclusión en las listas de establecimientos autorizados se deberán consultar las notas informativas específicas para cada país, publicadas en CEXGAN (Figura 1).

País	Producto	Nivel de aplicación	Actividades	Requiere SAE certificado (nivel)	Documentación específica para enviar al país tercero	Observaciones
<b>Arabia Saudí</b>	Carne y productos cárnicos de vacuno, ovino y caprino	Toda la cadena. Actividad específica	SH, CP, PP, RW, CS	Sí (2)	No	
<b>Argentina</b>	Productos cárnicos de ave transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	Sí (2)	No	
	Productos cárnicos de porcino transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	Sí (3)	No	
<b>Brasil</b>	Productos cárnicos de porcino transformados	Establecimiento productor final	PP, RW*	Sí (2)	No	* En el caso de reenvasador los establecimientos proveedores sí tienen que estar en la lista del DIPOA
<b>Canadá</b>	Carne fresca de porcino Tripas naturales de porcino Productos cárnicos de porcino transformados (se incluye la manteca, cortezas de cerdo) Productos compuestos que contengan carne o productos cárnicos de porcino	Toda la cadena. Actividad específica	SH, CP PP PP RW, CS	Sí (2)	No	

SH: Matadero (slaughterhouse); PP: Industria cárnica (processing plant); CS: Almacén frigorífico (cold storage);

CP: Sala de despiece (cutting plant); RW: Centro de reenvasado (rewrapping establishment).

1: No requisitos específicos. No SAE certificado. 2: No requisitos sanidad animal. Puede haber de salud pública. Trazabilidad completa de toda la cadena. 3: Requisitos sanidad animal, salud pública y trazabilidad completa de toda la cadena.

País	Producto	Nivel de aplicación	Actividades	Requiere SAE certificado (nivel)	Documentación específica para enviar al país tercero	Observaciones
<b>Chile</b>	Productos cárnicos de ave transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	No	Sí	
	Productos cárnicos de porcino transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	No	Sí	
	Alimentos compuestos con ingredientes de origen animal	Establecimiento productor final	PP, RW	No	Sí	
<b>China</b>	Carne fresca de porcino Productos cárnicos curados de porcino	Toda la cadena. Actividad específica	SH, CP, PP, CS, RW	Sí (3)	No	Autorización condicionada a visita autoridades país tercero
<b>Colombia</b>	Productos cárnicos de porcino transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	Sí (2)	Sí	
	Productos cárnicos de ave transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	Sí (2)	Sí	
<b>Corea del Sur</b>	Carne fresca de porcino Productos cárnicos de porcino transformados	Toda la cadena. Actividad específica	SH, CP, PP, CS PP, RW	Sí (3)	Sí	Autorización condicionada a visita autoridades país tercero

SH: Matadero (slaughterhouse); PP: Industria cárnica (processing plant) ; CS: Almacén frigorífico (cold storage);

CP: Sala de despiece (cutting plant); RW: Centro de reenvasado (rewrapping establishment).

1: No requisitos específicos. No SAE certificado. 2: No requisitos sanidad animal. Puede haber de salud pública. Trazabilidad completa de toda la cadena. 3: Requisitos sanidad animal, salud pública y trazabilidad completa de toda la cadena.

País	Producto	Nivel de aplicación	Actividades	Requiere SAE certificado (nivel)	Documentación específica para enviar al país tercero	Observaciones
<b>Costa Rica</b>	Productos cárnicos de porcino	Establecimiento productor final	PP, RW	Sí (2)	No	
	Productos cárnicos de ave transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	No	No	
	Alimentos compuestos con ingredientes de origen animal	Establecimiento productor final	PP, RW	No	No	
<b>Republica Dominicana</b>	Carne fresca de porcino, bovino, ovino y caprino	Establecimiento productor final	SH, CP	Sí (2)	No	Autorización condicionada a visita autoridades país tercero
<b>Estados Unidos</b>	Carne fresca de porcino Productos cárnicos de porcino transformados Alimentos compuestos que contengan carne de porcino en una proporción mayor de 2 % de producto cárnico o 3 % de carne cruda	Toda la cadena. Actividad específica	SH, CP, PP, RW	Sí (3)	No	
<b>Filipinas</b>	Carne fresca de porcino Productos cárnicos de porcino transformados	Establecimiento productor final	SH, CP, PP, RW, CS	Sí (2)	No	

SH: Matadero (slaughterhouse); PP: Industria cárnica (processing plant) ; CS: Almacén frigorífico (cold storage);

CP: Sala de despiece (cutting plant); RW: Centro de reenvasado (rewrapping establishment).

1: No requisitos específicos. No SAE certificado. 2: No requisitos sanidad animal. Puede haber de salud pública. Trazabilidad completa de toda la cadena. 3: Requisitos sanidad animal, salud pública y trazabilidad completa de toda la cadena.

País	Producto	Nivel de aplicación	Actividades	Requiere SAE certificado (nivel)	Documentación específica para enviar al país tercero	Observaciones
<b>Hong Kong</b>	Carne y productos derivados de ciervo de caza	Establecimiento productor final	CP, CS	Sí (2)	No	
<b>Indonesia</b>	Carne y productos cárnicos de vacuno y porcino	Establecimiento productor final	SH, CP, PP, RW, CS	No	Sí	Autorización condicionada a visita autoridades país tercero
	Carne y productos cárnicos de ave	Establecimiento productor final	SH, CP, PP, RW, CS	No	Sí	La apertura de este mercado está en proceso de negociación. Autorización condicionada a visita autoridades país tercero.
<b>Israel</b>	Carne fresca de vacuno, ovino y caprino Productos cárnicos de vacuno, ovino y caprino	Toda la cadena. Actividad específica	SH, CP, PP, RW, CS	Sí (3)	No (*) SI	(*) En el caso de instalaciones de salado Kosher

SH: Matadero (slaughterhouse); PP: Industria cárnica (processing plant) ; CS: Almacén frigorífico (cold storage);

CP: Sala de despiece (cutting plant); RW: Centro de reenvasado (rewrapping establishment).

1: No requisitos específicos. No SAE certificado. 2: No requisitos sanidad animal. Puede haber de salud pública. Trazabilidad completa de toda la cadena. 3: Requisitos sanidad animal, salud pública y trazabilidad completa de toda la cadena.

País	Producto	Nivel de aplicación	Actividades	Requiere SAE certificado (nivel)	Documentación específica para enviar al país tercero	Observaciones
<b>Japón</b>	Carne fresca de porcino Productos cárnicos de porcino transformados Productos compuestos que contengan carne o productos cárnicos de porcino, como croquetas de jamón	Toda la cadena. Actividad específica	SH, CP, PP, RW, CS	Sí (2)	No	
<b>Malasia</b>	Carne fresca de porcino	Mataderos	SH	Sí (2)	Sí	
<b>México</b>	Productos cárnicos de porcino transformados (curados, cocidos)	Establecimiento productor final	PP, RW	Sí (2)	No	
<b>Nicaragua</b>	Carne fresca de porcino/ave Productos cárnicos de porcino/ave transformados	Establecimiento productor final	SH, CP, PP, RW	No	No	
	Productos compuestos que contengan carne o productos cárnicos de porcino/ave y/o productos lácteos	Establecimiento productor final	PP, RW	No	No	

SH: Matadero (slaughterhouse); PP: Industria cárnica (processing plant) ; CS: Almacén frigorífico (cold storage);

CP: Sala de despiece (cutting plant); RW: Centro de reenvasado (rewrapping establishment).

1: No requisitos específicos. No SAE certificado. 2: No requisitos sanidad animal. Puede haber de salud pública. Trazabilidad completa de toda la cadena. 3: Requisitos sanidad animal, salud pública y trazabilidad completa de toda la cadena.



País	Producto	Nivel de aplicación	Actividades	Requiere SAE certificado (nivel)	Documentación específica para enviar al país tercero	Observaciones
<b>Panamá</b>	Productos cárnicos de porcino transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	No	No	
	Productos cárnicos de ave transformados	Establecimiento productor final	PP, RW	No	No	
	Pescado y productos de la pesca	Establecimiento productor final	FFP, ZV, FV, PP, RW	No	No	
	Alimentos compuestos con ingredientes de origen animal	Establecimiento productor final	PP, RW	No	No	Excepto los productos recogidos en el Resuelto AUPSA – DINAN – 002 – 2012 (ver nota informativa)
<b>Singapur</b>	Carne fresca de porcino Productos cárnicos de porcino transformados	Toda la cadena. Producto específico	SH, CP, PP, RW	Sí (2)	Sí	
	Productos cárnicos tratados térmicamente por calor y enlatados de porcino, ave, ovino	Establecimiento productor final	PP	Sí (2)	Sí	Solo se pueden mandar muestras para pruebas de laboratorio y no para venta comercial

SH: Matadero (slaughterhouse); PP: Industria cárnica (processing plant) ; CS: Almacén frigorífico (cold storage);

CP: Sala de despiece (cutting plant); RW: Centro de reenvasado (rewrapping establishment).

1: No requisitos específicos. No SAE certificado. 2: No requisitos sanidad animal. Puede haber de salud pública. Trazabilidad completa de toda la cadena. 3: Requisitos sanidad animal, salud pública y trazabilidad completa de toda la cadena.

País	Producto	Nivel de aplicación	Actividades	Requiere SAE certificado (nivel)	Documentación específica para enviar al país tercero	Observaciones
<b>Sudafrica</b>	Carne fresca de porcino	Establecimiento que manipule carne fresca / no transformada	SH, CP, MSM, MM, MP	Sí (3)	No	
	Carne fresca de bovino	Establecimiento que manipule carne fresca / no transformada	SH, CP, MM, MP	Sí (2)	No	
<b>Taiwán</b>	Carne fresca de porcino Productos cárnicos de porcino transformados (no enlatados o esterilizados)	Toda la cadena. Actividad específica	SH, CP, CS, PP, RW	Sí (2)	No	Autorización <b>mataderos</b> condicionada a visita autoridades país tercero
	Productos cárnicos tratados térmicamente por calor y enlatados de porcino y ave.	Establecimiento productor final	PP	No	No	
<b>Vietnám</b>	Carne fresca de porcino (incluye vísceras rojas) Productos cárnicos de porcino transformados	Establecimiento productor final	SH, CP, PP, RW	Sí (2)	Sí	
	Carne fresca de ave Productos cárnicos de ave transformados	Establecimiento productor final	SH, CP, PP, RW	No	Sí	

SH: Matadero (slaughterhouse); PP: Industria cárnica (processing plant) ; CS: Almacén frigorífico (cold storage);

CP: Sala de despiece (cutting plant); RW: Centro de reenvasado (rewrapping establishment).

1: No requisitos específicos. No SAE certificado. 2: No requisitos sanidad animal. Puede haber de salud pública. Trazabilidad completa de toda la cadena. 3: Requisitos sanidad animal, salud pública y trazabilidad completa de toda la cadena.

Figura 1. Criterios y documentación requerida para la inclusión en listas de establecimientos exportadores

## Capítulo 3. Material y métodos

---



El desarrollo y ejecución del plan de vigilancia se ha llevado a cabo mediante la utilización y combinación de las herramientas de inspección, auditoría, toma de muestras y análisis por parte del control oficial y el desarrollo de los planes de acción correspondientes por parte de los operadores económicos para corregir las no conformidades e incumplimientos detectados. Posteriormente se ha verificado la eficacia mediante la comprobación *in situ* de las medidas de control correspondientes, así como mediante toma de muestras y análisis.

El instrumento diseñado para llevar a cabo este proyecto se ha plasmado en el documento: **“Plan de vigilancia de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos listos para el consumo”**.

Asimismo para llevar a cabo la auditoría, de una forma uniforme, se ha utilizado el cuestionario: **“Formulario para el plan de vigilancia de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos listos para el consumo”**.

El carácter que en todo momento ha tenido este trabajo es de colaboración y corresponsabilidad con los industriales cárnicos para encontrar de manera conjunta y buscando soluciones consensuadas las mejores medidas que contribuyeran a mejorar el control de *Listeria monocytogenes*.

Los operadores económicos han sido muy conscientes de que la presencia de *Listeria* en sus industrias y en sus productos supone una amenaza de primer orden, tanto por su obligación de comercializar productos seguros que no supongan riesgo para el consumidor como por su otra vertiente comercial que puede limitar y costear sus posibilidades de expansión comercial.

En la actualidad, el desarrollo del plan, manteniendo un constante contacto con la industria, ha facilitado la creación de un clima de confianza que se juzga muy positivo para la consecución de un mejor control de riesgo. Anteriormente, los operadores estaban mucho más habituados a recibir inspecciones que no consideraban, en muchos casos, las recomendaciones para solventar los problemas detectados.

Por otra parte la toma de muestras tanto de productos como de superficies ha suministrado evidencias sobre el estado de situación inicialmente y sobre la eficacia de las medidas tomadas con carácter posterior.

Esa combinación de evidencias que suministran los resultados de las muestras, hallazgos *in situ* de la inspección y examen profundo de los sistemas de control implantados al realizar la

auditoría aderezados en un clima positivo de mejora y colaboración era uno de los objetivos perseguidos por el presente trabajo.

### 3.1. Plan de vigilancia de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos listos para el consumo

#### 3.1.1. Objetivo

Este plan incluido en el plan autonómico de control de la cadena alimentaria en Aragón (PACCAA) tiene por objetivo minimizar los riesgos de presencia de *L. monocytogenes* en productos u otros derivados cárnicos listos para consumo (LPC), mediante la comprobación del cumplimiento de los requisitos establecidos en la normativa vigente y en especial del R. 2073/2005 sobre criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, por parte de los operadores alimentarios.

#### 3.1.2. Ámbito

El plan de vigilancia se aplica a establecimientos de la comunidad autónoma de Aragón elaboradores de productos u otros derivados cárnicos listos para el consumo (LPC), productos que pueden ser consumidos sin que sea necesario aplicar un tratamiento térmico adicional con capacidad de destruir *L. monocytogenes*. Hemos considerado que pueden favorecer el desarrollo de *L. monocytogenes* (R. 2073/2005 epígrafe 1.2. del anexo I), las que poseen las características siguientes:

- $\text{pH} > 4,4$  o  $a_w > 0,92$ ; o bien  $\text{pH} > 5$  y  $a_w > 0,94$  considerados ambos parámetros teniendo en cuenta que, si supera cualquiera de las dos variables, puede favorecer el desarrollo de *L. monocytogenes*.
- Productos con vida útil igual o superior a 5 días.
- Productos en que el tratamiento recibido no sea suficiente para eliminar *L. monocytogenes* presente en la materia prima o aportada a lo largo del proceso de elaboración.
- Productos susceptibles de ser recontaminados por *L. monocytogenes* ambiental (contaminación a través de superficies de contacto o ambiente) tras recibir los

tratamientos letales y/o aplicar agentes o procesos antimicrobianos para suprimir o limitar el crecimiento de *L. monocytogenes*.

- Productos con un contenido de sal o concentración de conservantes compatibles con la supervivencia y/o crecimiento de *Listeria*.

Los establecimientos a los que se aplica este plan de vigilancia son:

- Establecimientos inscritos en el RGSEAA (registro general sanitario de empresas alimentarias y alimentos) que elaboran, envasan, o reenvasan (con o sin loncheado, deshuesado u otras operaciones de preparación) productos objeto del plan de vigilancia.
- Establecimientos que, en su mayoría, exportan o están en vías de conseguir la autorización para exportar a terceros países que exigen la permanencia en listas de establecimientos autorizados.

### 3.1.3. Actividades

Se llevará a cabo el control de los establecimientos elaboradores mediante la supervisión de determinados aspectos relacionados específicamente con el control de *Listeria monocytogenes*. Se actuará de forma específica en determinadas industrias consideradas de mayor riesgo según unos criterios de selección.

Las fases son las siguientes:

1. Selección de establecimientos.
2. Visita inicial con supervisión y toma de muestras.
3. Traslado de las conclusiones de la visita inicial y establecimiento de plan de acción.
4. Visita de seguimiento de las medidas correctivas incluidas en el plan de acción (solo a los que han debido establecerlas) y verificación mediante la toma de muestras que se considere oportuna a la vista de los resultados obtenidos y de las medidas implantadas recogidas en el plan de acción.
5. Visita de seguimiento de establecimientos en que ya se aplicó el plan de vigilancia en años anteriores.

### 3.1.3.1. Selección de establecimientos

La selección de los establecimientos se efectuará según criterios de riesgo y teniendo en cuenta, entre otros, los factores:

- Autorizados o en vías de autorización para exportación a países terceros que exigen la permanencia en listas de establecimientos autorizados.
- Categorización de riesgo (preferente mayor riesgo), teniendo en cuenta los siguientes aspectos: producto/s elaborado/s, tamaño de la empresa, complejidad del proceso; sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC)/prerrequisitos; histórico de resultados y sistema de calidad certificados que pueda tener implantados.

## 3.2. Visita inicial de supervisión y toma de muestras (1.<sup>a</sup> toma de muestras)

Esta visita se lleva a cabo en fecha pactada con el establecimiento y notificada por escrito con suficiente antelación.

En esta primera visita se procede a:

### 3.2.1. Supervisión

Se supervisa el sistema de autocontrol y su implantación especialmente en lo relativo a:

- Comprobación de si todos los productos LPC están incluidos en los controles relativos a *Listeria monocytogenes* y, en su caso, justificación de porque alguno/s han sido excluidos.
- Descripción de los productos implicados. Especial consideración de las características fisicoquímicas (pH,  $a_w$ , sal, conservantes), tipo de envasado, vida útil determinada, estudios de vida útil, etiquetado, indicaciones de modo de empleo, uso esperado y población diana.
- Procedimientos de limpieza y desinfección.
- Procedimientos de higiene previos a las operaciones y durante las mismas.
- Programa normalizado de control de la higiene (PNCH) en el caso de establecimientos autorizados para determinados países.



- Sistema APPCC con relación a los controles establecidos en el mismo frente al peligro *L. monocytogenes*, especialmente cuando exista un tratamiento de letalidad para la bacteria. Si existen puntos de control crítico frente a este riesgo: consideración como peligro, existencia de medidas preventivas, consideración de PCC, límites críticos, vigilancia, verificación, medidas de control, registro. Validaciones en relación con parámetros como tiempo, temperatura, aditivos empleados y dosis, conservación, determinación de vida útil. Información del etiquetado.
- Supervisión de todas las analíticas disponibles en el establecimiento sobre *Listeria* tanto de materia prima como de producto acabado, superficies o medio ambiente.

Para la realización de la auditoría se utilizará el formulario específico “Formulario del plan de vigilancia de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos listos para el consumo”.

### 3.2.2. Toma de muestras

#### 3.2.2.1. Superficies en contacto y aguas de condensación

Tomar al menos 5 muestras de superficies y/o agua de condensación o encharcamientos por establecimiento. Cuando se consideró conveniente debido al número de superficies seleccionadas, se incrementó este número.

Teniendo en cuenta que *Listeria monocytogenes* llega a los alimentos preferentemente a través de contaminación por contacto con superficies, manipuladores o ambiente, las superficies y aguas a muestrear son aquellas que pueden aportar esa contaminación, especialmente cuando el producto no va a recibir ningún tratamiento adicional y previo al envasado.

#### 3.2.2.2. Muestras de superficies

Se toman durante el proceso de elaboración. Teniendo en cuenta lo comentado anteriormente, la actividad de la industria y los productos elaborados, así como sus procesos, se proponen las siguientes superficies a muestrear:

- Picadora, amasadora, embutidora.
- Loncheadora (zona de corte y zona interior que no permanece a la vista mediante toallita o desmontándola), envasadora.
- Material de envasado.

- Cinta transportadora.
- Esterillas de apoyo.
- Bañeras de producto.
- Mesas de trabajo, tablas de corte (particularmente aquellas en las que se deposita el producto después de la pasteurización, cocción u otro tratamiento letal y antes de su envasado).
- Guantes no desechables, guantes de malla.
- Cuchillos (particularmente en la unión entre el mango y la hoja).
- Ruedas de los carros que transportan alimentos.

### 3.2.2.3. Muestras de agua

Teniendo en cuenta lo señalado para las muestras en superficies, las muestras de agua se recogerán de los siguientes ambientes:

- Zonas de alta humedad.
- Rejillas de ventilación.
- Todas las cámaras frigoríficas (particularmente ventiladores de los sistemas de enfriamiento, así como superficies bajo los evaporadores y paredes internas).
- Las muestras de agua de condensación en las bandejas de recogida de las cámaras frigoríficas situadas bajo los evaporadores, y también bajo las mismas y en otras zonas donde se detecte la condensación.
- El agua en zonas con encharcamiento o alta humedad que tengan probabilidad de llegar al alimento directamente o mediante salpicaduras.
- Abatidores de temperatura.
- Registros de aguas residuales (este punto es más importante en la investigación de la causa).

Entre todos estos puntos se priorizará para reunir las muestras: todos los equipos de frío y los puntos situados después del tratamiento letal y antes del envasado, momentos en los que son más vulnerables los alimentos, así como aquellos puntos en que es más probable encontrar fallos de limpieza.

#### 3.2.2.4. Muestras de producto

Se toman tantas muestras de producto listo para el consumo ya terminado y envasado como productos LPC elabora la industria, y como mínimo 5, aunque tengan que analizarse lotes diferentes del mismo producto si no fabrica tantas LPC diferentes. Todas ellas serán remitidas al laboratorio que se encargará de analizarlas.

#### 3.2.3. Material necesario

Debemos señalar que todos los medios de cultivo (líquidos y sólidos), productos químicos y kits de pruebas comerciales se encuentran en perfecto estado y dentro de la fecha de utilización. En la determinación del peso, medidas de volumen, pH,  $a_w$  y tiempo y temperatura consideramos aceptables y aplicables las siguientes variaciones: i) medidas de peso y volumen:  $\pm 1\%$ ; ii) pH: 0,3 unidades; iii)  $a_w$ : 0,05 unidades; iv) tiempo: horas  $\pm 1$  h; v) temperatura:  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

- Toallitas específicas para el muestreo de superficies (SterileSwab, AES laboratoire, Ref. CHI 100).
- Guantes estériles ambidiestros Luna. Distribuciones Berlin Castañar S.L. Zaragoza. España.
- Frasco de plástico estéril de toma de muestras de 100 ml mínimo Deltalab. Barcelona. España.
- Rotulador de tinta indeleble o etiquetas autoadhesivas.
- Nevera portátil refrigerada y refrigeradores.

#### 3.2.4. Metodología de toma de muestras de superficies y agua

- Lavado de manos y secado.
- Abrir el envase de la toallita sin extraerla.
- Romper el sobre transparente que recubre el frasco estéril.
- Ponerse un par de guantes estériles.
- Sacar la toallita y desplegarla completamente.

- Frotar intensamente y con fricción la superficie a muestrear haciendo contactar toda la toalla 5 veces por cada una de las caras y efectuándolo en todos los sentidos: horizontal, vertical y oblicuo. En el caso de tratarse de agua procedente de condensación, encharcamientos u otras humedades empapar la toallita y dejarla que se impregne completamente de agua.
- Introducir la toalla en el frasco estéril cerrándolo inmediatamente.
- Identificar el frasco mediante un nº o bien con etiqueta autoadhesiva. La ubicación y descripción de la superficie figurará detallada en el documento donde se refleje la toma de muestras.
- Introducir el frasco en la nevera portátil refrigerada cerrándola de inmediato.
- Eliminar los guantes estériles utilizados y repetir el procedimiento en cada una de las tomas de muestras siguientes..

### **3.2.5. Metodología de toma de muestras de producto cárnico listo para el consumo (tanto para microbiología como para pH y $a_w$ )**

- Tomar un envase cerrado de la cámara o almacén de producto terminado comprobando su integridad y etiquetado correcto.
- Identificar el producto mediante un número o bien con etiqueta autoadhesiva. La descripción y características del producto (refrigeración, congelación, conservación al vacío, vida útil u otros datos de interés) figurarán detalladamente en el documento donde se refleje la toma de muestras.
- Introducir el producto en la nevera portátil refrigerada cerrándola de inmediato.

### **3.2.6. Transporte al laboratorio**

- Las muestras se trasladarán al laboratorio de salud pública del gobierno de Aragón lo antes posible manteniendo la cadena del frío.
- A la entrega se facilitarán las muestras con las correspondientes solicitudes de ensayo cumplimentadas, según los códigos establecidos para las determinaciones requeridas que se detallan en la Tabla 8.

Se llevará a cabo un programa de toma de muestras para la microbiología de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* tanto investigación como recuento, y para las determinaciones de pH y actividad agua ( $a_w$ ) según el siguiente esquema:

Tabla 8. Determinaciones o parámetros solicitados al laboratorio

Código PRB	Producto	Determinaciones	Valores
PPV1	Producto (listo para consumo al final de la producción)	<i>Listeria</i> spp.	Presencia-ausencia en 25g
		<i>Listeria monocytogenes</i>	Presencia-ausencia en 25g Recuento
		pH	
		Actividad de agua ( $a_w$ )	
SPV1	Superficies en contacto con alimentos, aguas de condensación o encharcamiento	<i>Listeria</i> spp.	Presencia-ausencia en la superficie muestreada
		<i>Listeria monocytogenes</i>	Presencia-ausencia en la superficie muestreada

PRB: programa de riesgos biológicos. PPV1: productos cárnicos listos para el consumo del plan de vigilancia. SPV1: superficies de trabajo, instalaciones, equipos y útiles del plan de vigilancia.

### 3.2.7. Inicio de los análisis

En el caso de las superficies y aguas los análisis comenzarán en un plazo máximo de 24 horas desde la realización de la toma de muestras.

En el caso de los productos cárnicos listos para el consumo los análisis deberán comenzar dentro de la vida útil del producto manteniendo rigurosamente las condiciones de conservación que el etiquetado establece.

### 3.3. Traslado de las conclusiones de la visita inicial y establecimiento del plan de acción (2.<sup>a</sup> visita)

El informe de la supervisión se emitirá cuando se disponga de los resultados analíticos y en él, además de señalarse las no conformidades detectadas, se podrán hacer recomendaciones de

control. Se les indicará que preparen un plan de acción con las medidas de control y calendario de implantación.

Se enviará primero por correo certificado y posteriormente se presentará y discutirá en una segunda visita en la que se terminarán de acordar las acciones correctoras que establecería el plan de acción.

### 3.3.1. Medidas de control

Se recomendará, entre otras, la adopción de medidas de control indicadas a continuación:

1. La consideración de *Listeria monocytogenes* como peligro específico en el plan de autocontrol.
2. Aplicar procedimientos de limpieza y desinfección específicos para *L. monocytogenes*, incluyendo acciones para prevenir biofilms, principios activos y su rotación, contemplar el desmontado de equipos, mantenimiento de equipos, etc.
3. La necesidad de incluir medidas preventivas o de control que podrán estar en el sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico APPCC (en forma de PCC si es necesario), en el PNCH (en caso de tenerlo desarrollado), o de prerrequisitos. En todo caso se justificarán sus mecanismos de control, que podrán incluir lo indicado en el punto siguiente.
4. Deberá tener establecido una verificación de *L. monocytogenes* en superficies, indicando:
  - Frecuencia de los muestreos.
  - Lugares y tamaño de las superficies a muestrear.
  - Explicación de por qué es suficiente este plan de muestreo.
5. La verificación representada de *L. monocytogenes* en producto final.
6. Determinación de las acciones a realizar ante resultados desfavorables de presencia de *L. monocytogenes* en valores superiores a los establecidos, tanto para controles de superficies como en producto, referidas, entre otras, a:
  - Medidas para restaurar la normalidad en el control del proceso.
  - Actuaciones sobre el producto posiblemente afectado.

- Acciones para evitar que el problema vuelva a repetirse.
  - Revisión del APPCC o PNCH.
7. Estudios de vida útil según los criterios establecidos en el anexo II del R. 2073/2005.

### **3.4. Visita de seguimiento de las medidas de control incluidas en el plan de acción (3.ª visita) y toma de muestras (2.ª toma de muestras)**

Tendrá de nuevos dos partes fundamentales.

#### **3.4.1. Supervisión**

- Comprobación de la implantación de las medidas de control, según lo acordado en la segunda visita, en su caso, y lo indicado en el plan de acción, con la comprobación de cumplimiento del calendario.
- Supervisión de los resultados analíticos del establecimiento.

#### **3.4.2. Toma de muestras**

- Con la misma sistemática que la indicada en la primera toma de muestras, incidiendo particularmente en los tipos de muestras positivas a *Listeria*. Podrá reducirse el número de muestras en el caso de establecimientos con resultados de auditoría y de muestreo favorables.
- Se intentará verificar la efectividad de las medidas tomadas.

### **3.5. Visita de seguimiento de las medidas de control (4.ª visita) y toma de muestras a establecimientos de años anteriores (3.ª toma de muestras)**

Realizar el seguimiento de las deficiencias pendientes de corrección. No es necesario la cumplimentación de todo el cuestionario. El carácter de las visitas sigue sin tener objetivo sancionador, salvo el caso de que en sucesivas visitas se compruebe que no se adoptan las medidas de control acordadas. Son industrias que precisan más de un ciclo para mejorar las debilidades detectadas.

Realizar igualmente la toma de muestras de 5 superficies y 5 productos, con las mismas determinaciones que en las actuaciones de la primera tanda. El objetivo con estos establecimientos es que alcancen un nivel en el control de *Listeria* satisfactorio y equiparable a los que obtuvieron buenos resultados.

### 3.6. Análisis de resultados y medidas que se muestran más eficaces

Una vez finalizadas las actuaciones, se evaluarán los informes, el cuestionario cumplimentado y los cuadros resumen de resultados obtenidos en las tomas de muestras para hacer una evaluación global de todas las actuaciones.

### 3.7. Laboratorios

Las determinaciones microbiológicas y fisicoquímicas se realizaron en el laboratorio de salud pública del gobierno de Aragón (sedes de Huesca, Teruel y Zaragoza).

#### 3.7.1. Material necesario

Debemos señalar que todos los medios de cultivo (líquidos y sólidos), productos químicos y kits de pruebas comerciales se encuentran en perfecto estado y dentro de la fecha de utilización. En la determinación del peso, medidas de volumen, pH,  $a_w$  y tiempo y temperatura consideramos aceptables y aplicables las siguientes variaciones: i) medidas de peso y volumen:  $\pm 1\%$ ; ii) pH: 0,3 unidades; iii)  $a_w$ : 0,05 unidades; iv) tiempo: horas  $\pm 1$  h; v) temperatura:  $\pm 1$  °C.

##### 3.7.1.1. Medios de cultivo

###### 3.7.1.1.1. Medios líquidos

- Agua de peptona tamponada. AES CHEMUNEX Laboratoire, Combourg, Francia (Ref. AEB140302).
- Caldo Fraser Demi (medio de enriquecimiento selectivo para *Listeria monocytogenes*). AES CHEMUNEX Laboratoire, Combourg, Francia (Ref. 1594-2).



El medio Fraser Demi ha sido desarrollado a partir del caldo Fraser haciéndolo menos selectivo mediante la disminución de la cantidad de ácido nalidíxico y de acriflavina. La composición es la siguiente:

- Peptona pancreática de caseína 5 g
- Peptona péptica de carne 5 g
- Extracto de carne 5 g
- Extracto de levadura 5 g
- Cloruro de sodio 20 g
- Fosfato disódico 9,6 g
- Fosfato monopotásico 1,35 g
- Esculina 1 g
- Cloruro de litio 3 g
- Ácido nalidíxico 0,010 g
- Acriflavina HCl 0,0125 g
- Agua destilada 1 litro

#### 3.7.1.1.2. Medios sólidos

— Agar ALOA (Agar *Listeria* según Ottaviani & Agosti). AES CHEMUNEX Laboratoire, Combourg, Francia (Ref. AEB520080).

La composición es la siguiente:

- Digestato enzimático de tejidos animales 18 g
- Digestato enzimático de caseína 6 g
- Extracto de levadura 10 g
- Piruvato de sodio 2 g
- Glucosa 2 g

- Glicerolfosfato de magnesio 1 g
- Sulfato de magnesio 0,5 g
- Cloruro de sodio 5 g
- Cloruro de litio 10 g
- Hidrógenofosfato dipotásico anhidro 2,5 g
- X-glucoside 0,05 g
- Ácido nalidíxico 0,02 g
- Ceftazidima 0,02 g
- Polimixina B 76700 U
- Anfotericina B 0,01 g
- Phosphatidylinostol 2 g
- Agar 13,5 g

— Agar ALOA Confirmación. Esta destinado a la confirmación de *Listeria monocytogenes* después del método de búsqueda ALOA One Day (validado por AFNOR) o después del recuento sobre ALOA Count. AES CHEMUNEX Laboratoire, Combourg, Francia (Ref. AEB120100).

El principio del medio ALOA Confirmación se basa en la observación de 3 características bioquímicas de *Listeria monocytogenes*:

- La expresión de una fosfolipasa responsable de un halo de opacificación alrededor de las colonias.
- La expresión de la betaglucosidasa, que, mediante el uso de un substrato cromogénico, permite una coloración azul-verde de las colonias características.
- La fermentación de la ramnosa, que, junto a un indicador de color, da una zona de viraje al amarillo alrededor de las colonias típicas.

— Agar PALCAM. Agar selectivo para *Listeria monocytogenes*. Laboratoire AES CHEMUNEX, Combourg, France (Ref. AEB522050).

Con la siguiente composición:

• Peptonas	23 g
• Almidón de maíz	1 g
• Extracto de levadura	3 g
• Cloruro sódico	5 g
• Glucosa	0,5 g
• Manitol	10 g
• Esculina	0,80 g
• Citrato ferrico amoniacal	0,50 g
• Cloruro de litio	15 g
• Rojo fenol	0,08 g
• Agar	15 g
• Acriflavina HCl	2,5 mg
• Cefotaxidina	10 mg
• Sulfato de polimixina B	5 mg

### 3.7.1.2. Pruebas bioquímicas de identificación

#### 3.7.1.2.1. Pruebas de confirmación a nivel de género

- Tinción de Gram.

La técnica se basa en aplicar una serie de colorantes a una muestra que contenga bacterias no identificadas. Aporta información sobre la forma de las bacterias, su manera de agruparse y el grupo taxonómico al que pertenecen: grampositivo o gramnegativo. Las bacterias grampositivas se visualizan de color morado y las gramnegativas de color rojo, rosa o grosella. Los colorantes

tiñen la pared de las bacterias de color morado que permanece si disponen de pared celular (grampositivas) y si no es así, quedan teñidas de rosa (gramnegativas).

Las bacterias del género *Listeria* son grampositivas y tienen forma de bacilos cortos. Algunas pueden observarse con forma de cocos y su agrupación más habitual es distribuirse “en empalizada”.

- Prueba de la catalasa.

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrogeno en oxígeno y agua. La base de esta prueba es demostrar la presencia de esta enzima. En un porta estéril se agrega peróxido de hidrogeno y se suspende una colonia con pipeta Pasteur. La formación de burbujas produciendo efervescencia indica prueba positiva.

Las bacterias del género *Listeria* son positivas a la prueba de la catalasa.

- Movilidad.

Para observar la movilidad se toman colonias típicas y se examina la movilidad formando una suspensión. Se usa una solución salina al 0,85 % en la que se emulsionan bien las colonias y se observan al microscopio con objetivo de inmersión de fase de contraste. Si la prueba es positiva se visualizan bastones delgados y cortos con un movimiento en “pirueta” o “barrilete”. También puede observarse un crecimiento “en paraguas” sembrando las colonias en agar SIM (medio de sulfuro indol para movilidad) a temperatura ambiente durante 7 días con revisión diaria.

Las bacterias del género *Listeria* son móviles a 22 °C e inmóviles a 37 °C.

#### **3.7.1.2.2. Pruebas de confirmación a nivel de especie**

- Hemólisis.

Sobre un agar con 5 % de sangre de (cordero, caballo, conejo ó humano) las colonias de *Listeria monocytogenes* presentan  $\beta$ -hemólisis muy suaves. Si se utiliza sangre de ovino y debido a que puede contener anticuerpos frente a *Listeria*, debe tenerse la precaución de investigar la hemólisis utilizando glóbulos rojos lavados.

Entre las especies del género *Listeria* son hemolíticas *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii* y *Listeria seeligeri*. El control negativo puede hacerse mediante *Listeria innocua* que es la más abundante o cualquiera de las otras especies.

- Test de CAMP (Christie-Atkinson-Munch-Petersen).

Esta prueba refuerza la de la hemólisis y sirve para resolver aquellas que son dudosas. Se inocula por estría una cepa de *Staphylococcus aureus*  $\beta$ -hemolítico y en paralelo y diametralmente opuesta una cepa de *Rhodococcus equi* en una placa de agar sangre de cordero. Perpendicularmente a estas estrías se siembran las cepas problema y se incuban a 35° C durante 24-48 h.

*Listeria monocytogenes* manifiesta una hemólisis óptima a las 24 h generando el factor CAMP. Se ve incrementada en la zona de influencia de *Staphylococcus aureus* porque se produce un sinergismo con la  $\beta$ -lisina producida por este germen y que genera la lisis de los eritrocitos. Por su parte *Rhodococcus equi* interacciona con una hemolisina de *L. monocytogenes* incrementando también la hemólisis.

- Utilización de azúcares.

En un caldo base de púrpura de bromocresol con 0,5 % de carbohidratos se puede hacer una batería corta con manitol, ramnosa y xilosa.

*Listeria monocytogenes* es manitol negativa, ramnosa positiva y xilosa negativa.

- Galería API *Listeria*.

La galería API *Listeria* es un sistema estandarizado para la identificación de especies de *Listeria* que utiliza ensayos miniaturizados, así como una base de datos específica. La galería consta de 10 microtubos que contienen substratos deshidratados y permiten la realización de ensayos enzimáticos o de fermentación de azúcares. Biomerieux, Marcy l'Etoile, Francia (Ref. 10300).

### 3.7.1.3. Equipos

- pHmetro: Crison modelo MicropH 2002. Fisher Cientific, Comercial Afora, Zaragoza, España. Fabricación Schwabach, Alemania.
- Agitador magnético: Agimatic-E, J.P. Selecta S.A. Abrera, Barcelona, España.
- Agitador de tubos: Dinko modelo 051, Salamanca, España.
- Autoclave para esterilización de medios de cultivo y material: J.P. Selecta modelo Autester/S-437-G 75 L. Abrera, Barcelona, España.
- Autoclave para esterilización residuos y material de desecho: J.P. Selecta modelo Autester/S-437-G 75 L. Abrera, Barcelona, España.

- Balanza granatario: Scaltec modelo SBA 53. Comercial Quimilabor, Zaragoza, España. Fabricado en GMBH, Alemania.
- Diluidor 10-300g: Dilumat modelo 3 MK2. Instrulab, Zaragoza, España. Fabricado en Combours, Francia.
- Estufa de incubación 30°C: Nüve modelo EN055 120L. Instrumentación y componentes, Zaragoza, España. Fabricado en Ankara, Turquía.
- Estufa de incubación a 37°C: Nemmert modelo INE 600. Fisher Cientific, Comercial Afora, Zaragoza, España. Fabricación Schwabach, Alemania.
- Frigorífico 1, medios de cultivo: Dometic modelo ML-1200. Comercial Baes S.L., Huesca, España. Fabricado en Luxemburgo.
- Frigorífico 2, medios de cultivo: Dometic modelo ML-1200. Comercial Baes S.L., Huesca, España. Fabricado en Luxemburgo.
- Frigorífico 3, muestras: Dometic modelo ML-600 G. Comercial Baes S.L., Huesca, España. Fabricado en Luxemburgo.
- Congelador: Liebherr modelo Confort. Fabricado en Eigen-Donau, Alemania.
- Stomacher: AES Laboratoire modelo 1066 MIX 2. Instrulab. Zaragoza, España. Fabricado en Combours, Francia.
- Stomacher : Blender 400 modelo BA 6021. Comercial Quimilabor, Zaragoza, España. Fabricado en London, Reino Unido.
- Macro Pipette Controller: Fisher Cientific, Afora, Zaragoza, España. Fabricado en Wertheim, Alemania (Ref. 26100).
- Medidor de actividad agua ( $a_w$ ): Aqualab series 4. Laboratorio Ferrer. Cervera (Lérida). España.

#### 3.7.1.4. Material desechable

- Asas de Drigalski estériles: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 20500 1x1000).
- Asas de siembra calibradas estériles: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 302703 1x200).

- Asas de siembra semiflexibles estériles: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 302744).
- Guantes de latex: Naturflex 100 u., Bimédica. Cornell de Llobregat, Barcelona, España.
- Guantes de latex estériles empolvados usar y tirar para toma de muestras: Kendall Curita Powdered 50 pares (Ref. TPPHS 75).
- Mascarilla FFP3: Dragger, X-Plore, marca Dragger, Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 3951088).
- Bolsas Stomacher 400 ml: Vidrafoc, S.A., Barcelona, España (Ref. 15003).
- Bolsas esterilizar material estufa Pasteur: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. BH 06081).
- Bolsas esterilizar material en autoclave: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 311250).
- Bolsas residuos biológicos 80L: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 129-0031).
- Papel filtro sobre mesas de trabajo 60 g/m<sup>2</sup>: Resmas, Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 15104252).
- Placas Petri estériles de 90 mm de diámetro: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 200200).
- Toallitas humedecidas toma de muestras: Bionerieux SA, Wipes, Marcy-l'Étoile, Francia (Ref. CHI 100N).
- Pipetas de siembra estériles de 1 ml envueltas individualmente: Jet Biofil. Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. GSP 01001).

#### 3.7.1.5. Material de vidrio y metálico

- Gradillas de acero inoxidable.
- Asas (10 µl) y pinchos de nicrom para siembra microbiológica.
- Tijeras de acero inoxidable.
- Pinzas de acero inoxidable microbiología.
- Pipetas Pasteur de vidrio: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 859/4).
- Tubos de ensayo de 16x160 mm.

### 3.7.1.6. Otros

- Alcohol 96° 500 ml: Vidrafoc S.A., Barcelona, España (Ref. 96-500).
- Agua de lejía rebajada: solución de lejía comercial (hipoclorito de sodio, solución de 42,5 g de cloro activo en agua destilada al 0,67 %).
- Jabón comercial manos eficacia bactericida 500 ml: Instrunet, Inibsa laboratorios, Barcelona, España (Ref. 2000065602).

### 3.7.2. Técnicas analíticas microbiológicas

La investigación y el recuento de *Listeria monocytogenes* se hizo en principio siguiendo las normas UNE-EN-ISO 11290-1 para la investigación o detección y la UNE-EN-ISO 11290-2 para el recuento. Posteriormente, con la acreditación de todos los laboratorios de salud pública del gobierno de Aragón por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) se utilizaron:

- Procedimiento ITE M100-02 para investigación o detección de *L. monocytogenes* en alimentos y muestra medioambientales (soporte paños) incorporando el método alternativo ALOA OneDay.
- Procedimiento ITE M103-02 para el recuento en placa de *L. monocytogenes* en alimentos incorporando el método alternativo ALOA Count.

Estas determinaciones figuran acreditadas y constan en el alcance de acreditación del laboratorio de salud pública de Aragón Expediente LE/458 R 351 (Revisión 3; seguimiento 1), cuya última evaluación a cargo de ENAC tuvo lugar el 21 de noviembre de 2016 con nº 29971.

La investigación de *Listeria* spp. no está acreditada y se realiza según esquema que se aporta en la Figura 9 compartiendo los primeros pasos de la determinación con las técnicas señaladas anteriormente que si lo están. Una vez que se descarta la presencia de *L. monocytogenes* se comprueba si las ufc (unidades formadoras de colonias) crecidas son especies distintas del género *Listeria* para poder dar el resultado de:

- Presencia-ausencia en 25 g en productos listos para el consumo.
- Presencia-ausencia en la superficie muestreada para superficies.



*Listeria* spp. se considera un parámetro indicador muy importante para que los operadores económicos puedan juzgar la eficacia de la limpieza y desinfección o el peligro potencial de presencia de la especie patógena *L. monocytogenes*. Otras especies comparten los mismos nichos, es muy habitual que se encuentren en el mismo biofilm y su prevalencia, en muchos casos, depende únicamente de cuestiones de ecología microbiana u oportunidad dentro de las zonas de muestreo. En este trabajo se consideró un indicador estratégico para detectar la problemática y su presencia se ha venido interpretando como alarma por el riesgo que nos manifiesta. Por eso, a pesar de no figurar en el R. 2073/2005 ni ser una determinación habitual en los alimentos, se decidió incluirla.

#### **3.7.2.1. Investigación de *Listeria monocytogenes* en alimentos y muestras ambientales**

##### **Siguiendo la norma UNE-EN-ISO 11290-1**

Se homogeneiza la muestra en caldo Fraser a media concentración y se incuba  $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$  a  $30^\circ \text{C}$ . Transcurrido dicho periodo se aísla en placas de agar PALCAM y agar ALOA ( $37^\circ \text{C}/24/48 \text{ h}$ ) y se traspasa 0,1 ml a un tubo de 10 ml de caldo Fraser, concentración normal incubándolo a  $37^\circ \text{C}$  durante 24-48 h. Tras su incubación se realiza aislamiento en agar PALCAM y agar ALOA ( $37^\circ \text{C}/24-48 \text{ h}$ ). Las colonias con morfología típica de *L. monocytogenes* se confirman mediante las pruebas de confirmación a nivel de género: tinción de Gram, catalasa y movilidad, y las pruebas de confirmación a nivel de especie: hemólisis, test de CAMP, utilización de azúcares y galería API *Listeria* descritas en el apartado 3.7.1.2.

En la Figura 2, se esquematiza la investigación de *L. monocytogenes* según la norma ISO reseñada.

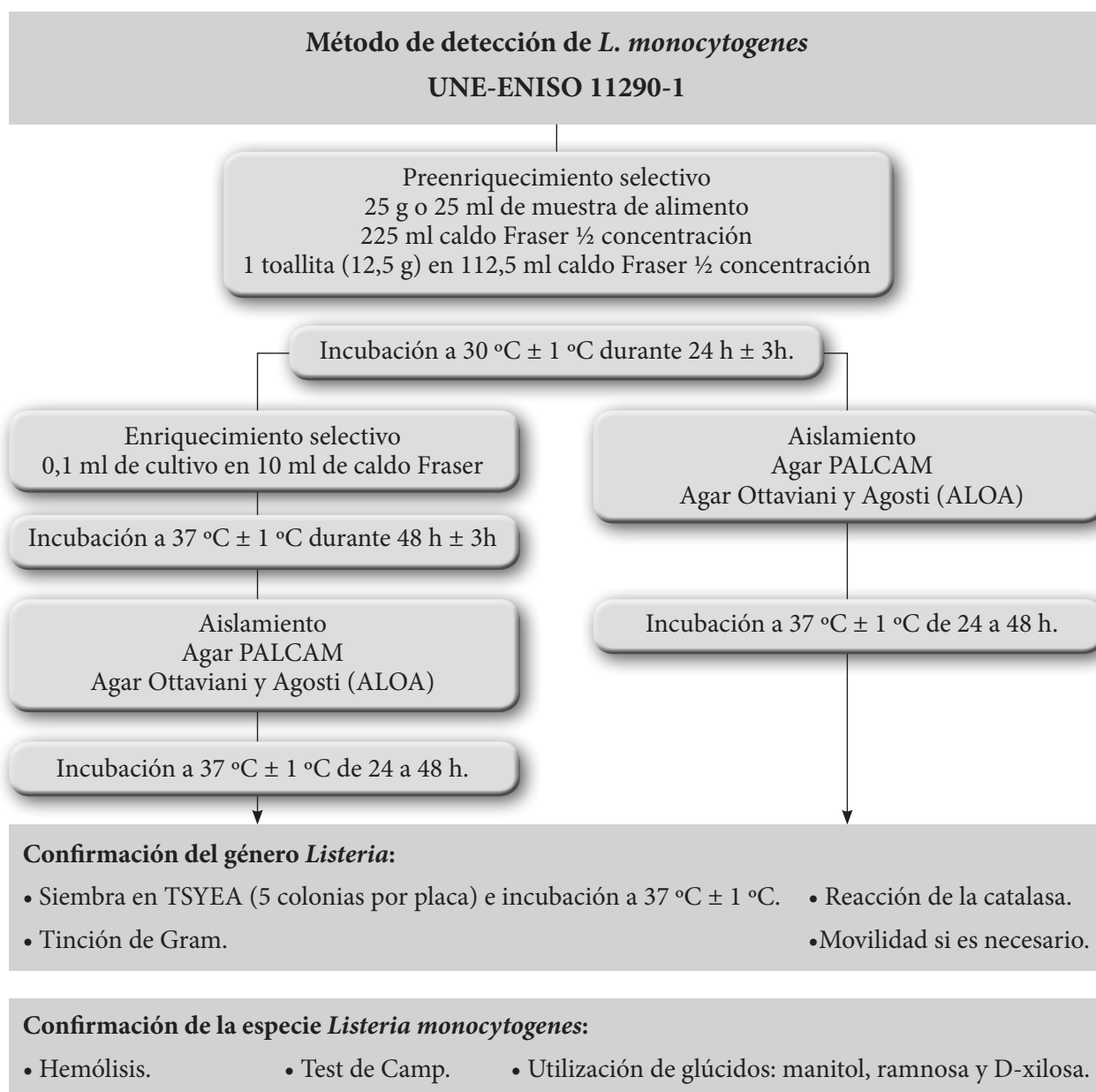


Figura 2. Diseño analítico de investigación o detección de *Listeria monocytogenes* según la norma UNE-EN-ISO 11290-1

### 3.7.2.1.1. Lectura de las placas de agar ALOA y agar PALCAM

#### 1. Características de las colonias en agar ALOA

En caso de presencia de colonias en las placas de agar ALOA, hay que tener en cuenta que:

- Las listerias forman colonias circulares, regulares, de 1 a 2 mm de diámetro, de color azul verdoso (detección de la  $\beta$ -glucosidasa, gracias a un substrato cromogénico específico (X-glucósido)).

- b) Las colonias de *L. monocytogenes* presentan, además, un halo opaco (vinculado a la actividad de la fosfatidilinositol-fosfolipasa C implicada en el proceso infeccioso de esta bacteria).

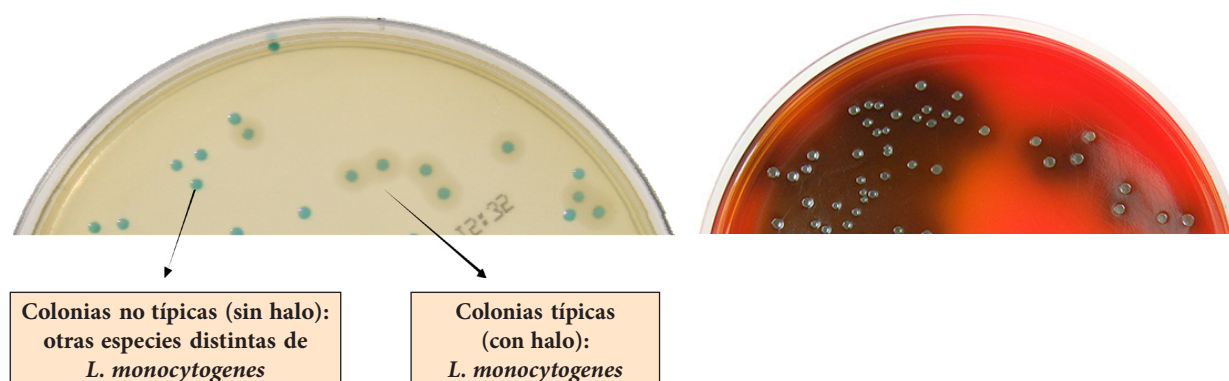


Figura 3. Colonias típicas de *Listeria monocytogenes* en agar ALOA (izquierda) y en agar PALCAM (derecha)

## 2. Características de las colonias en agar PALCAM.

Las listerias forman colonias regulares verde-grisáceas con halo marrón-negro. El agar PALCAM es diferencial para el desarrollo de *Listeria* spp. debido a que el producto de hidrólisis de la esculina en presencia de iones  $Fe^{3+}$  forma un compuesto fenólico de color negro. Además es selectivo debido a que contiene antibióticos que inhiben total o parcialmente el desarrollo de la flora acompañante presente en la muestra y permiten la recuperación de *Listeria* spp.

3. Las colonias típicas descritas, en ambos medios deberán ser objeto de pruebas de confirmación: confirmación de una colonia típica, según los test clásicos de los métodos normalizados (p. ej. en nuestro caso, galerías API) o según el protocolo en agar ALOA Confirmation. El método validado en nuestro laboratorio incluye la confirmación con este último medio.

### 3.7.2.1.2. Confirmación de colonias típicas en agar ALOA. Confirmation

El principio del medio ALOA Confirmation se basa en evidenciar tres características bioquímicas de *Listeria monocytogenes*:

Las dos primeras son las definidas en el agar ALOA (una fosfatidilinositol-fosfolipasa C y una  $\beta$ -glucosidasa). La tercera característica, es la fermentación de la ramnosa que, junto a un indicador de acidez, da una zona de viraje al amarillo alrededor de las colonias típicas.

La fermentación de la ramnosa permite discriminar *L. monocytogenes* de otras especies que pueden presentar un perfil característico sobre el agar ALOA, como *Listeria ivanovii* o algunos *Bacillus cereus*.

—La siembra en medio ALOA Confirmation se realiza del siguiente modo:

A partir de una colonia típica y aislada sobre ALOA (redonda, lisa, con borde regular, de coloración azul-verdosa y rodeada de un halo de opacidad), se realiza una única siembra por estría en la superficie del medio. Es posible confirmar hasta 6 colonias características sobre la misma placa, tal y como se observa en la Figura 4.

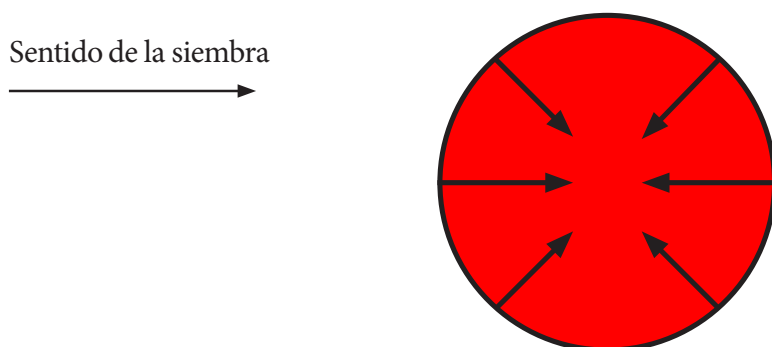


Figura 4. Medio ALOA Confirmation y sentido de la siembra

— Incubar las placas de ALOA Confirmation a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ .

#### Lectura placas ALOA Confirmation

El crecimiento en medio ALOA Confirmation se interpreta de la siguiente manera:

1. Estría azul verde + cambio a amarillo + halo de opacidad: *L. monocytogenes*.
2. Estría azul verde + cambio a amarillo: *L. innocua*.
3. Estría azul + halo de opacidad sin cambio a amarillo: *L. ivanovii*.
4. Otros.

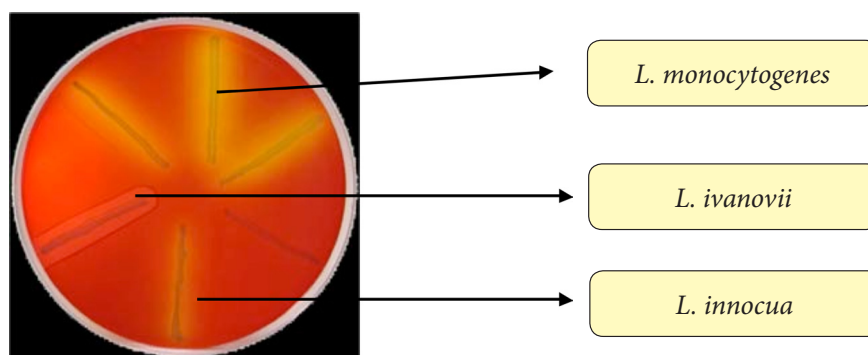


Figura 5. Interpretación de crecimiento y hemólisis en medio ALOA Confirmation para distinguir *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* y *L. innocua*

### 3.7.2.2. Investigación de *Listeria monocytogenes* en alimentos y muestra ambientales siguiendo la norma acreditada ITE M100-02

Se agrega unidad de masa de muestra para 9 volúmenes de caldo Fraser-demi, se homogeneiza y se incuba  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  a  $30^\circ \text{C} \pm 1^\circ \text{C}$ . Transcurrida la incubación se siembra en agar ALOA que se incuba a  $37^\circ \text{C} \pm 1^\circ \text{C}$  durante 24-48 h. Si hay crecimiento de colonias típicas se confirman en agar ALOA confirmación tras incubarse durante  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  a  $37^\circ \text{C} \pm 1^\circ \text{C}$ .

En la Figura 6, se sintetiza la investigación de *L. monocytogenes* según la norma acreditada ITE M100-02 incorporando el método alternativo ALOA OneDay.

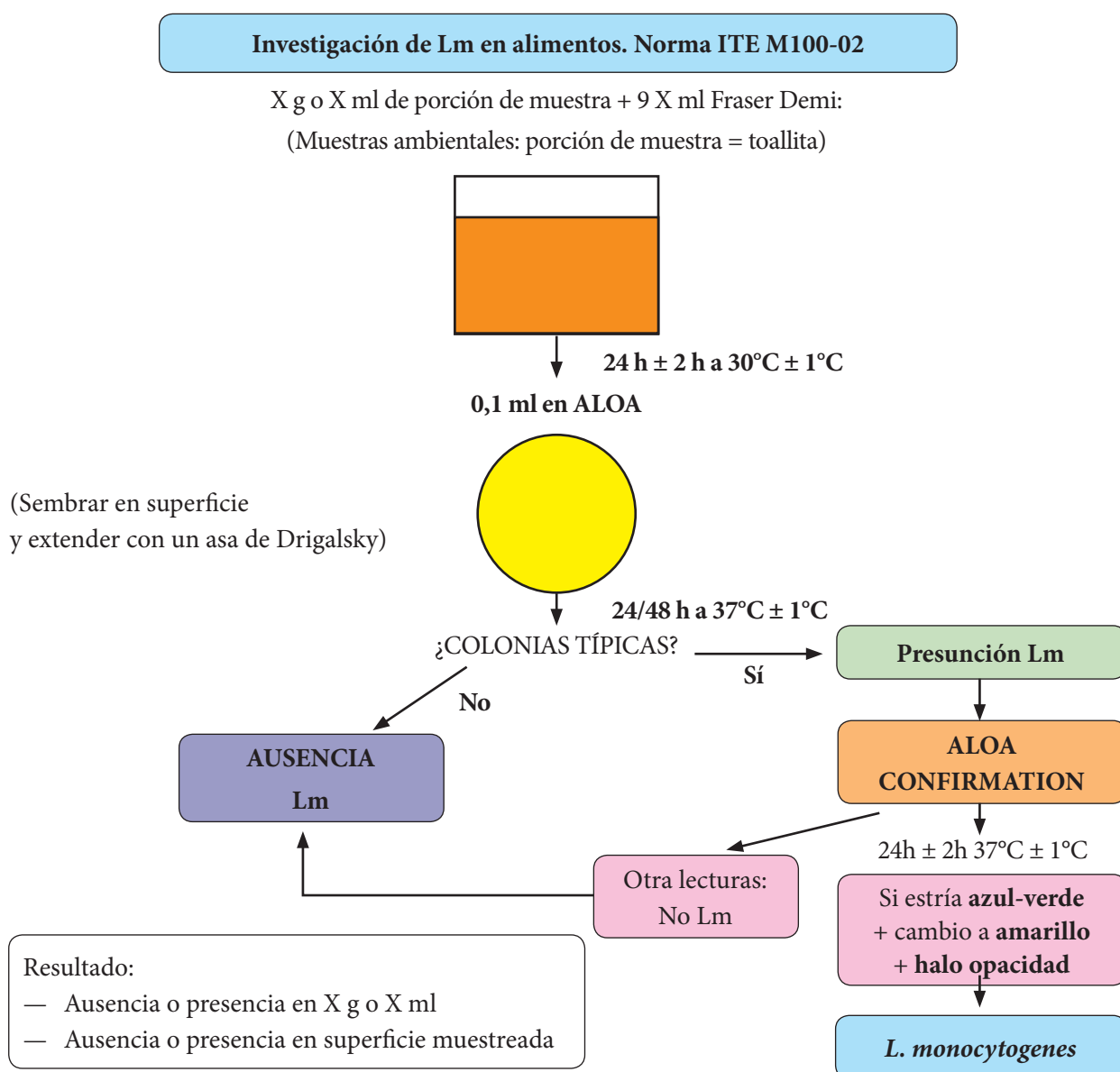


Figura 6. Esquema analítico del método de investigación de *Listeria monocytogenes*, norma INE M100-02

### 3.7.2.3. Recuento de *Listeria monocytogenes* en alimentos siguiendo la norma UNE-EN-ISO 11290-2

Una vez homogeneizada la muestra en caldo Fraser-demi se mantiene durante 1 h a temperatura ambiente para obtener la adaptación de *Listeria* en caso de estar presente. Después se siembra por triplicado 0,333 ml (siembra para bajos recuentos) del homogeneizado en caldo Fraser en placas de agar PALCAM y agar ALOA, incubando a 37° C durante 24-48 h. Se realiza el recuento de las colonias con morfología típica confirmándolas mediante pruebas bioquímicas y posterior galería API *Listeria*.

En la Figura 7, se compendia el recuento de *L. monocytogenes* en alimentos según la norma UNE-EN-ISO referida.

#### Método de recuento de *L. monocytogenes* UNE-EN-ISO 11290-2

**Suspensión inicial:** 25 g de alimento + 250 ml de agua de peptona tamponada o medio base semi-Fraser

**Suspensión inicial:** 9 x g o 9 x ml de diluyente para su preparación.  
Utilizamos agua de peptona tamponada o medio base semi-Fraser.

**Revivificación:** durante 1 hora a 20°C.

**Siembra:** en superficie de agar Ottaviani y Agosti (ALOA).

**Incubación:** 37°C ± 1°C de 24 h a 48 h.

**Identificación y recuento:** especies de *Listeria*.

#### Confirmación del género *Listeria*:

\* Inoculación en TSYEA (5 colonias por placa) e incubación a 37°C ± 1°C. \*Reacción de la catalasa.

\* Tinción de Gram.

\*Movilidad si es necesario.

#### Confirmación de la especie *Listeria monocytogenes*:

\*Hemólisis.

\*Test de Camp.

\* Utilización de glúcidos: manitol, ramnosa y D-xilosa.

Figura 7. Diseño analítico del método de recuento de *Listeria monocytogenes* según UNE-EN-ISO 11290-2

### 3.7.2.4. Recuento de *Listeria monocytogenes* en alimentos siguiendo la norma acreditada ITE M103-02 incorporando el método alternativo ALOA Count

Se agrega unidad de masa de muestra para 9 volúmenes de agua de peptona tamponada. Se homogeneiza y deja reposar  $1 \text{ h} \pm 5 \text{ min}$  a  $20^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$ . Transcurrido el tiempo de revivificación se siembra en superficie 1 ml en 3 placas de agar ALOA. Las placas de ALOA se incuban a  $37^\circ \text{C} \pm 1^\circ \text{C}$  durante 48 h. Se cuentan las colonias típicas y se confirman con agar ALOA Confirmation, incubando a  $37^\circ \text{C} \pm 1^\circ \text{C}$  durante  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ . Esta confirmación final es la principal diferencia respecto método de referencia 11290-2.

La Figura 8 presenta el esquema de la técnica.

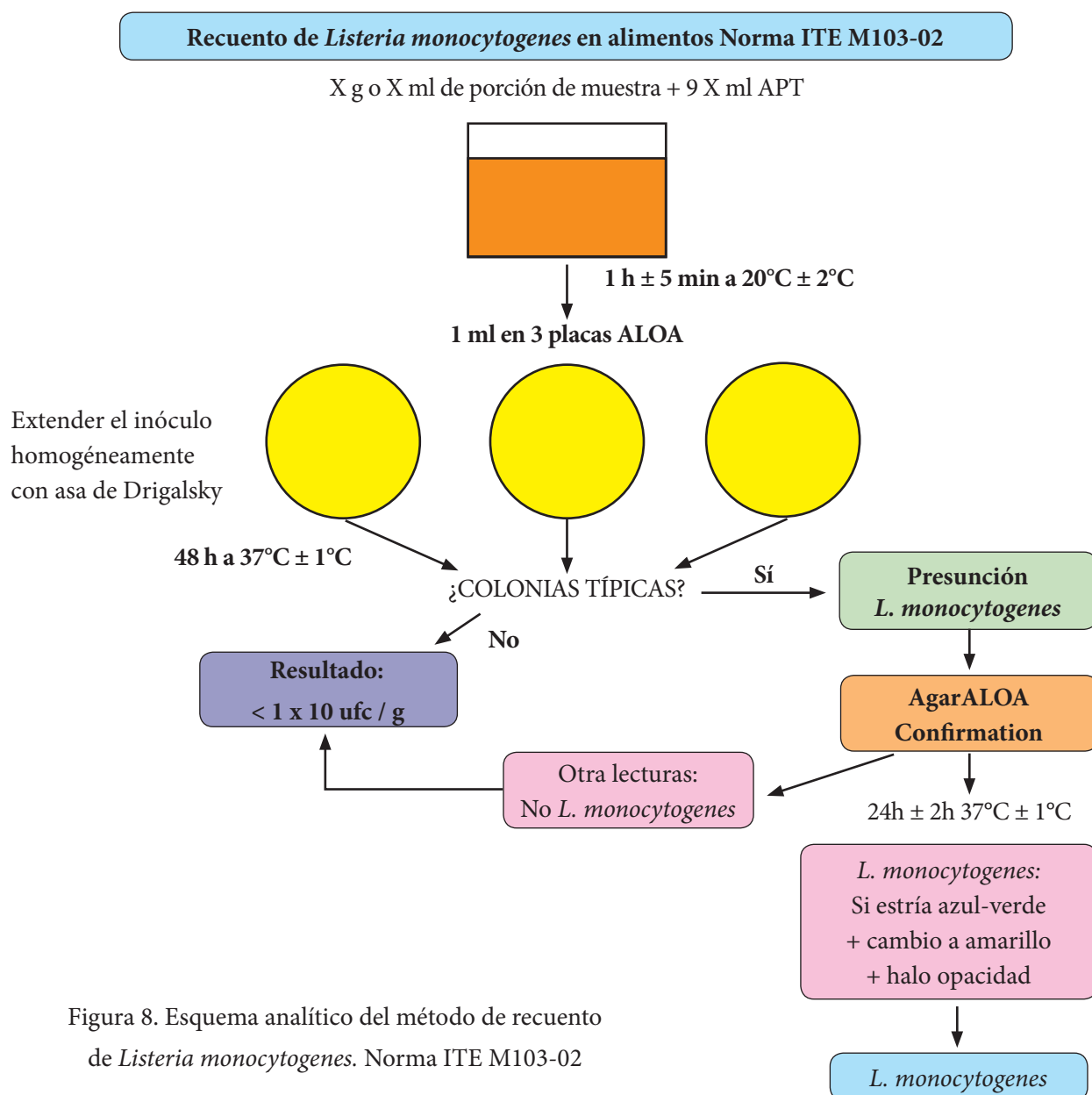


Figura 8. Esquema analítico del método de recuento de *Listeria monocytogenes*. Norma ITE M103-02

### 3.7.2.5. Detección de *Listeria* spp. en alimentos y superficies

Esta técnica consiste en realizar los mismos pasos iniciales que en la detección de *Listeria monocytogenes* homogeneizando la muestra en caldo Fraser-demi durante  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  a  $30^\circ \text{ C} \pm 1^\circ \text{ C}$ . Transcurrida la incubación se siembra en agar ALOA que se incuba a  $37^\circ \text{ C} \pm 1^\circ \text{ C}$  durante 24-48 h. Si hay crecimiento de colonias típicas (circulares azul verdosos sin halo), se siembran en estría en agar PALCAM incubándose a  $37^\circ \text{ C} \pm 1^\circ \text{ C}$  durante  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ . Una vez incubadas en agar PALCAM si presentan estría negra, se conforma bioquímicamente y el resultado será presencia en 25 g y ausencia en 25 g en caso contrario (Figura 9).



Nº MUESTRA ☐ Código PRB : ☐ Producto:

CONDICIONES DE INCUBACIÓN, LECTURAS Y RESULTADOS

TÉCNICA	DIA 1º	DIA 2º	DIA 3º	DIA 4º	DIA 5º	DIA 6º	DIA 7º	RESULTADO FINAL
	Fecha:							
<i>Listeria</i> spp (1/Superficie muestreada)	<b>Fraser Demi</b> 24 h a 30°C	<b>ALOA</b> 37±1 °C/ 24-48 h	LECTURA (24 h) ALOA	Lectura agar PALCAM (ALOA 24 h):	Lectura agar PALCAM (ALOA 48 h):			Fecha:
			<input type="checkbox"/> No crecimiento de colonias típicas <input type="checkbox"/> Crecimiento de colonias típicas <i>Listeria</i> spp. (verde azuladas: con halo y sin halo)	Nº colonias conf: Características: <input type="checkbox"/> Estría negra <input type="checkbox"/> No estría negra LECTURA (48 h) ALOA Si presencia colonias típicas <i>Listeria</i> spp (verdes azuladas: con halo y sin halo) PALCAM a 24±2°C/37±1h Nº colonias sembradas:	Nº colonias conf: Características: r Estría negra r No estría negra			
ITE –M100								

Figura 9. Procedimiento interno de determinación de *Listeria* spp. del laboratorio de salud pública de Aragón

### 3.7.3. Técnicas analíticas fisicoquímicas

**Determinación del pH:** se ha seguido la técnica de la norma ISO 2917:1999 (Determinación del pH en carne y productos cárnicos):

- Se hace una pesada de entre 5 y 10 g del producto cárnico en cuestión asegurándose de que se toma muestra tanto del centro del producto como de la periferia. En el caso de embutidos en rodajas o si se trata de otro tipo de producto llegando hasta el centro.
- Depositar la pesada en una bolsa de Stomacher y añadir agua destilada desionizada. La cantidad de agua en ml añadida saldrá de multiplicar el peso en g por 9.
- Homogeneizar la solución mediante Stomacher aplicando como mínimo 3 ciclos de 30 segundos cada uno. Si el producto no se encuentra todavía bien disuelto se somete a algún ciclo suplementario.
- Verter la solución en un vaso de precipitados de 100 ml o ligeramente superior para que el electrodo quede bien cubierto.
- Introducir el electrodo del pHmetro Crison modelo MICROPH 2002 serie 2537, en el vaso con la solución y leer el resultado.
- Es importante que la temperatura a la que se hacen estas mediciones no soporte grandes variaciones, teniendo como cifra ideal los 22 °C.

**Determinación de la actividad agua ( $a_w$ ):** Se ha determinado mediante el equipo AquaLab S4, siguiendo la metodología recomendada y expresando el resultado como la media de tres mediciones representativas en cada uno de los alimentos.

Este equipo incorpora un control interno de temperatura superficial del producto por sensor de infrarrojos, para medir de forma precisa la  $a_w$  de los productos. El tiempo de medida es < 5 min, el intervalo de 0,030 a 1,000  $a_w$ . La operativa es colocar la cantidad establecida en el portamuestras y obtener el resultado de la medición.

Tanto el pH como la  $a_w$  se consideran dos parámetros fundamentales para juzgar si el producto analizado puede favorecer o no el crecimiento y desarrollo de *Listeria*.

### 3.8. Formulario de auditoría para los productos cárnicos listos para el consumo (LPC)

Con el objeto de realizar una auditoría completa de todos los aspectos que intervienen en el control de *Listeria monocytogenes* dentro de una industria cárnica, tanto estructurales como de prerrequisitos, programas pre y operativos, APPCC, controles analíticos o de implementación de nueva tecnología se realizó este formulario. Pretende obtener una fotografía que identifique potencialmente las carencias y oportunidades de mejora en el control de este peligro.

Tabla 9. Formulario de auditoría y toma de muestras para productos cárnicos listos para el consumo (LPC), en el plan de vigilancia de *Listeria monocytogenes*

FORMULARIO DE AUDITORÍA Y TOMA DE MUESTRAS PARA PRODUCTOS CÁRNICOS LPC (listos para el consumo) EN EL PLAN DE VIGILANCIA DE <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>						
Veterinarios				Fecha		
Titular				nº RGSEAA		
Dirección						
Población				Provincia		
Actividades						
PRODUCTOS CÁRNICOS LISTOS PARA CONSUMO						
SALAZONES	PRODUCTO	pH	a <sub>w</sub>	% NaCl	Fecha consumo	P.S.C.L. Sí/No (*)
	Jamón/Paleta					
	Bacon/panceta					
	Tocina salado					
	Cecina					
	Lomo embuchado					
	Lomo adobado					
PICADOS CRUDOS CURADOS	Chorizo					
	Longaniza					
	Salchichón					
	Salami					
	Fuet					
	Sobrasada					
	Morcón					
COCIDOS	PIEZAS ENTERAS	Jamón/paleta cocidos				
		Fiambre de jamón/paleta				
	PASTA PICADA O EMULSIONADA	Morcilla				
		Butifarra				
		Salchichas cocidas				
		Foie-gras y patés				
		Mortadelas				
		Cabeza de jabalí				
		Pollo/pavo/gallina trufada				

PLATOS COCINADOS CÁRNICOS						
LONCHEADOS						
OTROS						

(\*)PSCL Productos susceptibles de crecimiento de *Listeria*. Esta columna servirá tras la valoración de los parámetros indicados en la fila correspondiente para conocer qué productos concretos son objeto del presente cuestionario.

### 3.8.1. Descripción del producto, materias primas, envasado, etiquetado y vida útil de los productos susceptibles de crecimiento de *Listeria* (PSCL)

Descripción del producto/s PSCL
Distribución (comarcal, regional, nacional, internacional, pequeño comercio, gran distribución)
Volumen estimado de producción por producto susceptible PSCL
Población destinataria de los productos PSCL

#### Materias primas

##### 1.- Ingredientes cárnicos

Diferenciar los ingredientes que intervienen en cada producto PSCL

Producto	Ingredientes (Incluso parte anatómica, T <sup>a</sup> y forma de conservación pieza. Incluir tripas, en su caso)	Origen (Matadero/s, sala/s de despiece, almacén/es frigorífico/s –concretar–)	Homologación De proveedores Sí/No	Requisitos de Homologación (RGSEAA, analíticas especificaciones F-Q-M)

## 2.- Condimentos y especias. Diferenciar por producto PSCL

Producto	Condimentos y especias (licores, hierbas, especias, sal, vinagre...)	Origen autorizado Sí/No	Homologación de proveedores Sí/No	Requisitos de Homologación (RGSEAA, analíticas especificaciones F-Q-M)

## 3.- Aditivos y aromas. Diferenciar por producto PSCL

En el caso de mezclas preparadas desglosar por aditivos y otros componentes.

Producto	Nº identificación	Cantidad usada	Justificación tecnológica	Origen autorizado	Homologación de proveedores Sí/No	Requisitos de homologación (RGSEAA analíticas especificaciones F-Q-M)

**Envasado PSCL**

## 1.- Material/es

Producto	Material/es	Autorización/es	Características (inerte; algún tipo de actividad antibacteriana...)

## 2.- Tipo envasado

Producto	Tipo envasado (protector vacío, atmósfera modificada, otros... Especificar % gases y cualquier otra peculiaridad)	Presencia de algún indicador (rotura cadena del frío, proliferación bacteriana...)

## 3.- Momento y lugar envasado

Producto	Momento exacto envasado (considerar fases de enfriamiento, reposo, posenfriamiento, envasado sobre pedido y todas las fases que puedan suponer exposición posletal del producto)	Lugar envasado

**Etiquetado: adjuntar una etiqueta de cada producto PSCL**

¿Cuál es la definición de lote? Especificar por producto:

Producto	Definición lote

### Vida útil

Se han realizado estudios de vida útil para cada producto PSCL:

Sí / No / parcialmente (indicar cuáles).....

En caso afirmativo detallar:

Producto	Documentación científica que lo avala (reseña bibliográfica)	Estudio realizado (en el caso de los estudios y, si es posible, adjuntar copia de los mismos o, en caso contrario, tomar todos los datos nece- sarios para su posterior valoración)

Si no es posible obtener una copia: resumen/es del procedimiento/s y datos de los estudios presentados.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### 3.8.2. Descripción de la tecnología de la fabricación (tratamiento térmico, cultivos estériles, enzimas, coadyuvantes tecnológicos, reprocesos o procesos paralelos)

#### Tecnología de fabricación

Detallar los tratamientos subletales (consiguen una reducción logarítmica importante de bacterias del género *Listeria*), letales (consiguen la eliminación en el producto de bacterias del género *Listeria*) o posletales (eliminan las especies de *Listeria* una vez producido el envasado).

Ejemplos tratamientos subletales (nitrificación, otros agentes antimicrobianos, oreo, estufaje, curación, fermentación, concentración de sal, envasado...).

Ejemplos tratamientos letales (cocción, pasteurización, esterilización...).

Ejemplos tratamientos posletales (pasteurización, inmersión en agua a 90 °C, 2 min en su envase final, altas presiones hidrostáticas).

Señalar los tratamientos que se consideren significativos en la fabricación de PSCL. Es importante que los tratamientos se describan de la forma más objetiva y numérica posible (p. ej. 500 MPa/8 min).

Tabla 10. Descripción de las tecnologías de fabricación que influyen en el control de *L. monocytogenes*

Producto	Tratamiento (subletal, letal, posletal)	Tipo tratamiento	Objetivo que consigue (Ej: reducción $\geq 3$ log ufc/g)

Si los productos PSCL son picados crudos curados ¿Cuál es el calibre del picado?

Producto:..... Calibre:.....

Producto:..... Calibre:.....

Producto:..... Calibre:.....

En la fabricación de los productos PSCL considerados ¿se utilizan cultivos estériles? Sí / No. En caso afirmativo detallar:



Producto	Composición cultivo estándar	Fin tecnológico

En la fabricación de los PSCL considerados ¿Se utilizan enzimas? Sí / No. En caso afirmativo detallar:

Producto	Enzima/s usadas	Fin tecnológico

En la fabricación de los PSCL considerados ¿Se utilizan coadyuvantes tecnológicos? Sí / No. En caso afirmativo detallar:

Producto	Coadyuvantes tecnológicos usados	Fin tecnológico

En la fabricación de los PSCL considerados, ¿se realizan reprocesos (ej: incorporación embutidos rotos durante el embutido, dobles cocciones ante una contaminación, etc...) o procesos paralelos (ej: desalado de tripas, grapados, atados) que se consideren importantes para la presencia de *Listeria*? Sí / No. En caso afirmativo detallar. Prestar atención especial a la exposición posletal, periodo transcurrido entre el proceso letal y el envasado.

Producto	Reproceso o proceso paralelo	Medidas preventivas frente a <i>Listeria</i> tomadas

### 3.8.3. Plan de limpieza y desinfección

Tabla 11. Plan de limpieza y desinfección

Limpieza y desinfección (L + D)	
En qué momento se realiza.....	
Quién la realiza: personal propio o empresa externa (caso de ser empresa externa indicarlo)	
.....	
En algún caso se realiza en presencia de productos (ingredientes, producto intermedio, producto final) (en caso afirmativo detallar).	
Procedimiento general (detallar):	
Existen procedimientos específicos de limpieza y desinfección de equipos que contactan directamente con la carne (picadora, amasadora, embutidora, contenedores...) Si es así, detallar equipo y procedimiento; es importante señalar si se desmontan los equipos y con qué frecuencia.	
Equipo	Procedimiento
¿Se toma alguna medida frente a los goteos por condensación (unidades de refrigeración y condensación de equipos de frío, techos, tuberías,...) o a las salpicaduras por encharcamientos? Detallar:	
¿Existe procedimiento de limpieza y desinfección del equipo de climatización, filtros y conducciones? Detallar:	
¿Se realiza secado de las instalaciones o equipos tras finalizar la limpieza y desinfección? En caso afirmativo, detallar el procedimiento.	

Productos de limpieza empleados (detergentes, desengrasantes, desincrustantes, antiespumantes...)			
Producto	Función	Concentración	Ficha técnica (Sí / No) (si se dispone de ficha técnica adjuntar copia)

Productos desinfectantes (biocidas empleados)					
Producto	N.º registro H.A (sanidad)	Actividad anti-microbiana	Concentración	Ficha técnica Sí/No	Ficha seguridad

Frecuencias, detallar:

Dependencia, equipo, utensilios	Frecuencia de la limpieza y desinfección

¿Se verifica la eficacia de la limpieza y desinfección?  
 En caso afirmativo detallar el procedimiento usado (determinación ATP para detectar materia orgánica, placas de contacto para determinar *Listeria* spp., hisopos, toallitas y aplicación ISO u otro método analítico, otro tipo de verificaciones...)

Método de muestreo	Método analítico	Laboratorio propio o privado; caso de ser privado indicarlo

### 3.8.4. Procedimientos preoperativos y operativos de control de la higiene y PNCH

Tabla 12. Procedimientos de control de la higiene antes, durante y después de las operaciones y/o programa normalizado de control de la higiene (PNCH)

Buenas prácticas de higiene. Procedimientos de control de la higiene antes, durante y después de las operaciones		
Procedimientos preoperativos.- Detallar los que incidan en el perfecto estado de instalaciones, equipos, personal y superficies que van a contactar directamente con el producto (no repetirlo si se describen en el plan limpieza y desinfección)		
Procedimientos operativos.- Detallar los llevados a cabo durante la jornada de trabajo (concretamente: limpieza de equipos de corte, picadoras, amasadoras, embutidoras, limpiezas establecidas para los útiles, cintas, higiene del personal,...)		
Equipo, higiene personal	Procedimiento	Frecuencia
⇒ ¿Existen variaciones de tiempo importantes en la jornada laboral?		
⇒ En caso afirmativo, ¿dependen los operativos del tiempo de trabajo?		
<b>Programa normalizado de control de la higiene</b> ⇒ ¿Dispone de P.N.C.H.) Sí / No ⇒ ¿Cómo se corrigen las no conformidades detectadas en preoperativos y operativos y en qué momento?		

### 3.8.5. Descripción del sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) frente al peligro *Listeria monocytogenes*

Tabla 13. Sistema APPCC de la industria

APPCC. Análisis de peligros y puntos de control crítico frente al peligro <i>Listeria monocytógenes</i>		
¿Se ha considerado el peligro <i>Listeria monocytogenes</i> ? Sí / No		
En caso negativo detallar qué características del producto, procesos de elaboración o tratamientos que impiden que <i>L. monocytogenes</i> se considere peligro		
En caso afirmativo y considerándose <i>L. monocytogenes</i> un peligro		
¿Qué programa/s de control sirven para prevenirlo, reducirlo o eliminarlo? Detallar el programa y el procedimiento concreto y calificarlo como subletal (logra una reducción logarítmica cuantitativa que se especificará), letal (logra en ese momento la total eliminación de <i>L. monocytogenes</i> ) y posletal (el tratamiento higienizante se realiza una vez envasado el producto).		
Programa	Procedimiento	Calificación
En caso de haberse establecido PCC (Punto/s críticos de control) (pH, a <sub>w</sub> , NaCl, fecha consumo,...)		
Detallar para cada PCC los siguientes aspectos:		
⇒PCC (1)		
⇒Peligro <i>Listeria monocytogenes</i>		
⇒Límites críticos		
⇒Vigilancia		
⇒Medidas de control		
⇒Verificación		
⇒Registros		

⇒PCC (2)
⇒Peligro <i>Listeria monocytogenes</i>
⇒Límites críticos
⇒Vigilancia
⇒Medidas de control
⇒Verificación
⇒Registros
⇒PCC (3)
⇒Peligro <i>Listeria monocytogenes</i>
⇒Límites críticos
⇒Vigilancia
⇒Medidas de control
⇒Verificación
⇒Registros

<b>Verificaciones analíticas de <i>Listeria</i></b>
¿Se realizan análisis para las determinaciones de <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Listeria</i> spp. o algún otro germen indicador de bacterias del género <i>Listeria</i> ? Sí / No.
En caso afirmativo, detallar en qué tipo de productos, superficies o medio ambiente.
Materias primas:
Productos intermedios:
Producto final:
Superficies:
Medio ambiente:

### 3.8.6. Histórico de resultados analíticos de listeria en la industria

Detalle de los resultados de los análisis efectuados. También se incluirán, en su caso, los resultados de las muestras tomadas dentro del control oficial o cualquier sistema de control de calidad. Complimentar la siguiente tabla.



Ante resultados positivos, cumplimentar la siguiente tabla:

Tabla 15. Actuaciones ante resultados analíticos positivos a *Listeria* en la industria

Fecha y tipo de producto/ superficie, muestra o medio ambiente en la que da el resustado positivo	Conclusiones investigación causas y fecha informe	Medidas de control y fecha implantación	Medidas preventivas para evitar la recurrencia y fecha implantación

Observaciones y acalaciones:



## 3.8.7. Registro de toma de muestras durante la ejecución del plan

Tabla 16. Hoja de toma de muestras a cumplimentar en las industrias

Hoja de toma de muestras de superficies y agua de condensación o zonas húmedas				
Nº	Hora de toma de muestras	La superficie o equipo está siendo utilizado Sí/No	Descripción superficie, agua de condensación o zona húmeda	Observaciones
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				

### 3.9. Tratamiento de los datos obtenidos en el plan de vigilancia

Para poder realizar una evaluación global del plan, se diseñó una clasificación que permitiera relacionar los tipos de industrias, los productos, las superficies y las medidas de control. De este modo se analizó primero individualmente, industria por industria, y, luego, en conjunto, por especialidades productoras. La evolución sufrida tras la aplicación del plan y la eficacia de las distintas medidas de control aplicadas. También se evalúa el comportamiento de los productos más características de cada grupo.

Con todos los datos obtenidos y para poder contrastar las diferencias antes y después de tomar medidas de control de *Listeria*, se realizó el estudio estadístico utilizando pruebas no paramétricas de McNemar con el programa SPSS.

Estos fueron los 4 agrupamientos que se efectuaron:

#### 3.9.1. Grupos de industrias según especialidad productiva. Han sido 35 industrias agrupadas en 5 tipo de productos cárnicos

1. Elaboradoras de productos picados crudos curados (19): A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A12, A13, B1, B6, B9, B10, C1, C3, C7, C8, C9, C10.
2. Elaboradora de productos cocidos (5): A8, B3, C2, C4, C6.
3. Elaboradoras de productos en salazón (2): A9, A10.
4. Elaboradoras de productos loncheados (salazones y crudos curados) (7): B2, B4, B5, B7, B8, B11, C5.
5. Elaboradoras de platos preparados cárnicos (2): A11, A14.

#### 3.9.2. Grupos de productos cárnicos listos para el consumo. Han sido 36 elaborados cárnicos agrupados en 5 grupos de productos cárnicos

1. Productos picados crudos curados (8): chorizo, salchichón, longaniza, fuet, secallona, salami, chistorra, sobrasada.
2. Productos cocidos (10): butifarra, jamón de york, fiambre jamón de york, salchichas tipo Frankfurt, mortadela, fuagrás, cabeza de jabalí, morcilla, torteta, rotí de pollo.
3. Productos en salazón (3): jamón curado, panceta, lomo ibérico.

4. Productos loncheados (8):

- Crudos curados (2): chorizo, salchichón.
- Salazones (2): jamón curado, lomo ibérico.
- Cocidos (4): jamón de york, mortadela, cabeza de jabalí, rotí de pollo.

5. Platos preparados cárnicos (7): escalope de cerdo, pechuga de pollo, muslitos de pollo, callos, croquetas, lasaña, paella.

**3.9.3. Grupos de superficies relacionadas directa o indirectamente con los grupos de productos cárnicos (5)**

1. Relacionadas directamente con el grupo de crudos curados (11):

Picadora.  
Amasadora.  
Embutidora.  
Carros de curado.  
Cubetas de crudos curados.  
Atadora; clipadora; grapadora.  
Cámara estufaje (pared).  
Envase especias.  
Pala especias.

2. Relacionadas directamente con el grupo de cocidos (5):

Vagonetas transporte cocidos.  
Cubetas transporte cocidos.  
Carros cocidos.  
Pared sala cocidos.  
Peladora salchichas.

3. Relacionadas directamente con el grupo de salazones (11):

Cintas transportadoras.

Cepilladora.

Formadora.

Sopladora.

Clasificadora (de jamones por peso).

Descortezadora.

Secadero (pared).

Peladora de jamones.

Masajeadora.

Prensas.

Perchas jamones.

4. Relacionadas directamente con productos cárnicos loncheados (2):

Loncheadora.

Loncheadora (bandeja).

5. Equipos e instalaciones comunes a todas las industrias cárnicas (19):

Lamas puertas.

Envasadora.

Mesa FCS (superficie de contacto directo con el alimento).

Cortes FCS (superficie de contacto directo con el alimento).

Cámara (estantería).

Cámara (pared).

Cámara (jaula).

Cámara (percha).

Guantes.

Envase aditivos.

Pala aditivos.

Soporte NFC (superficie de no contacto directo con los alimentos).

Envase (cuando no se especifica nada es de carne fresca).

Envase (producto).

Tablas corte.

Desagües.

Condensaciones.

Equipos aire acondicionado.

Termoformadora.

En total se ha actuado sobre **48 superficies agrupadas en 5 grupos**.

#### **3.9.4. Grupos de medidas de control (8)**

##### **1. Implementación de nuevos planes y previsión de actuaciones (10):**

Modificaciones en RGSEAA.

Estudios de vida útil (realización).

Estudios de vida útil (reducción vida útil).

Retirada del producto.

Medidas de control frente a presencia de *Listeria*.

Destrucción del producto.

Actuaciones ante positivos en superficies.

Actuaciones ante positivos en producto.

Investigación de causas.

Plan específico de control de *Listeria*.

##### **2. Cambios estructurales y de equipos (4):**

Sustitución e incorporación de equipos (secadero).

Diseño higiénico de equipos.

Estructurales (separación fresco-procesado).

Sustitución suelos.

3. Prerrequisitos distintos de limpieza y desinfección (9):

Homologación de proveedores (nuevos requerimientos).

Homologación de proveedores (cambio de proveedor).

Plan de mantenimiento de equipos.

Formación específica manipuladores.

Formación específica responsables.

Control potabilidad del agua.

Control temperatura de cámaras.

Etiquetado.

MCA (materiales en contacto con alimentos).

4. Limpieza y desinfección (LD) (15):

LD de procedimientos.

LD de formación.

LD de biocidas.

LD de rotación.

LD de secado.

LD de nuevos equipos.

LD productos específicos de choque.

LD del equipo y conducciones del aire acondicionado.

LD de los de equipos desmontados.

LD de las superficies de no contacto directo con alimentos (NFC).

Desinfecciones ambientales.

Alfombra antimicrobiana.

Crear puntos de descontaminación.

Exposición posletal (medidas higiénicas de limpieza y desinfección en la zona).

Condensaciones y salpicaduras.

5. Laboratorios (14):

Acreditación.

Técnicas análisis.

Técnicas de muestreo.

Introducir técnicas.

Incremento muestras verificación superficies.

Incremento muestras verificación materias primas.

Incremento muestras verificación producto.

Incremento muestras verificación superficies y producto.

Incremento muestras verificación manipuladores.

Introducir técnica analítica ATP en superficies.

Introducir técnica analítica *Listeria* spp.

Introducir analíticas ambientales.

Análisis superficies.

Análisis de tendencias.

6. Cambios en los procedimientos de fabricación (14):

Incremento tiempo de curado.

Periodos de curación mínimos.

Externalización servicio de loncheado.

Reducción tiempo de enfriamiento de cocidos.

Cambios en el orden de elaboración.

Cambios en el momento de elaboración.

Incorporación tratamiento posletal.

Favorecer fermentación.

Incorporar cultivos acidolácticos.

Aditivos (etiquetado).

Aditivos (retirada).

Aditivos (concentración).

Aditivos (incorporación).

Aditivos (manejo).

7. Programa normalizado de control de la higiene (PNCH) (6):

Implantación PNCH.

PNCH (revisión).

Tolerancia en superficies.

Cambios en el orden de las operaciones.

Procedimientos para evitar cruces.

Revisión procedimientos pre y operativos.

8. Sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) (12):

APPCC (revisión).

APPCC (análisis de peligros).

APPCC (diagrama de flujo).

APPCC (verificaciones).

APPCC (establecer PCC, puntos de control crítico).

APPCC (calibración).

APPCC (registros).

APPCC (límites críticos).

Descripción de productos.

Curaciones mínimas.

Justificaciones científicotécnicas.

Caracterización pH y  $a_w$ .

Un total de **84 medidas agrupadas en 8 grupos.**



## Capítulo 4. Resultados y discusión

---



## 4.1. Descriptivos

### 4.1.1. Valores de pH y $a_w$ de los productos cárnicos analizados

Se presentan dos tablas en las que aparece la amplitud en la que se han situado los valores de pH y  $a_w$  de los 36 productos cárnicos LPC analizados, la media y la varianza. Sabemos que estos valores son fundamentales en la seguridad alimentaria de los productos respecto al control de *Listeria monocytogenes*.

En la primera de ellas (Tabla 17) se tabulan los valores obtenidos por grupos de productos cárnicos LPC, que son: picados crudos curados; cocidos; salazones; loncheados (crudos curados, cocidos y salazones) y platos preparados cárnicos.

Tabla 17. Valores de pH y  $a_w$  obtenidos por grupos de productos cárnicos LPC  
(amplitud, media y varianza)

Producto	$a_w$ min	$a_w$ max	$a_w$ media	$a_w$ var	pH min	pH máx	pH media	pH var
Picados crudos curados	0,70	0,97	0,87	0,01	4,5	7,6	5,70	0,30
Cocidos	0,97	0,99	0,98	3,60 E-05	5,2	7,1	6,45	0,13
Salazones	0,83	0,95	0,90	0,01	5,4	6,4	5,96	0,04
Loncheados crudos curados	0,86	0,94	0,90	0,01	4,5	6,2	5,47	0,33
Loncheados salazones	0,84	0,96	0,91	0,01	5	6,9	6,02	0,08
Loncheados cocidos	0,97	0,99	0,98	4E-05	6,3	6,6	6,47	0,01
Platos preparados cárnicos	0,91	0,99	0,98	0,01	6	6,6	6,30	0,02

En los productos cárnicos picados crudos curados la media de  $a_w$  fue 0,87 y la de pH 5,7. El valor medio de  $a_w$  que nos mide el grado de curación, no favorece el desarrollo de *Listeria monocytogenes* y está acompañado de valores de pH bajos, aunque no limitantes. Se trata de cifras similares a las obtenidas en otros trabajos (Fernández-Salguero y cols., 1994; Fernández-Salguero, 1995). Sin embargo, la horquilla de valores es amplia en ambos parámetros e incluye productos que por sus características físicoquímicas favorecerían el crecimiento de *Listeria*.

En el grupo de los productos cárnicos cocidos, ni uno ni otro de los valores obtenidos en ambos parámetros son limitantes y, por lo tanto, al igual que sucede en platos preparados cárnicos, cobra especial importancia evitar la contaminación posterior al tratamiento térmico y envasar higiénicamente el producto lo más rápido posible.

En los grupos de productos cárnicos en salazón y loncheados en salazón los valores son similares a los picados crudos curados y, por tanto, se pueden considerar seguros. La media de la  $a_w$  en estos dos grupos es casi 0,90, inferior al criterio de seguridad (<0,92), pero sin ofrecer excesivo margen y con valores en la amplitud compatibles con el crecimiento de *Listeria*. El pH de estos dos grupos está por encima del criterio limitante (4,4) indicado en el Reglamento (CE) N.º 2073/2005 (AESAN, 2010).

En la segunda tabla se presentan los datos de  $a_w$  y pH obtenidos en las determinaciones de los 14 productos cárnicos LPC más característicos de los 5 grupos, cuya elaboración es más habitual en Aragón y además han sido analizados en un mayor número de ocasiones (Tabla 18).

Tabla 18. Valores de pH y  $a_w$  obtenidos en los productos más característicos de cada grupo (amplitud, media y varianza)

Producto	$a_w$ min	$a_w$ max	$a_w$ media	$a_w$ var	pH min	pH máx	pH media	pH var
Longaniza	0,71	0,97	0,86	0,01	4,50	6,80	5,82	0,24
Butifarra	0,97	0,99	0,98	2,07 E-05	5,80	7,10	6,57	0,11
Jamón york	0,98	0,98	0,98	0	5,20	6,70	6,21	0,49
Salchicha tipo frankfurt	0,97	0,99	0,98	4,24 E-05	5,60	6,80	6,34	0,11
Salchichón	0,81	0,89	0,85	0,01	4,70	6,59	5,71	0,44
Jamón curado	0,84	0,93	0,89	0,01	5,60	6,30	5,96	0,03
Fiambre jamon york	0,98	0,98	0,98	#N/A	6,90	6,90	6,90	#N/A
Chorizo loncheado	0,86	0,94	0,91	0,01	4,50	6,10	5,35	0,37
Morcilla	0,97	0,98	0,98	3E-05	6,10	6,70	6,44	0,10
Chorizo	0,72	0,97	0,89	0,01	4,50	6,30	5,49	0,24
Salchichón loncheado	0,88	0,89	0,88	2,38 E-05	4,80	6,20	5,61	0,30
Lomo ibérico loncheado	0,85	0,95	0,91	0,01	5,00	6,10	5,55	0,12
Jamón loncheado	0,84	0,95	0,91	0,01	5,70	6,90	6,10	0,03
Lomo ibérico	0,83	0,93	0,89	0,01	5,40	6,20	5,87	0,07

#N/A: 1 muestra

Conocemos que es necesaria la combinación de varios parámetros, y como mínimo los dos que hemos valorado, para preservar la seguridad de los productos cárnicos elaborados (Food Standards Agency, 2003).

El chorizo y la longaniza presentan unos resultados de  $a_w$  y pH similares con unos valores medios que indican que se trata de un grupo de productos generalmente seguros, aunque hay algunos productos concretos que se deben considerar de riesgo en función de ambos parámetros.

El salchichón presentó resultados más bajos en la  $a_w$  que se achacan a su tiempo de curación superior a 30 días que logra esta reducción, aspecto que también se observa en los trabajos citados anteriormente (Fernández-Salguero y cols., 1994; Fernández-Salguero, 1995).

Los productos LPC cocidos analizados (jamón de york, fiambre de jamón de york, morcilla, butifarra y salchicha tipo Frankfurt), presentan valores cercanos entre sí con  $a_w$  de 0,98 y pH próximo a 6,5. Como hemos comentado en la tabla anterior esto hace que sean muy susceptibles ante una contaminación posterior al tratamiento de letalidad y que deban extremarse las medidas higiénicas, lo mismo sucede con los loncheados de cocidos con el agravante de que la fase de loncheado es un proceso de alto riesgo.

Las salazones, con jamón y lomo ibérico como representantes, presentan valores seguros, pero se evidencia que, en algunos casos, hubo curaciones reducidas en el tiempo que les resta seguridad y siendo esto más acusado en el caso de los productos loncheados, tanto de crudos curados como de salazones, que presentan valores muy próximos a los favorecedores del desarrollo de *Listeria* que incluso, en algunos casos, son superados. El salchichón loncheado en cambio, tiene un valor de  $a_w$  más bajo, hecho señalado por AESAN (2010).

#### **4.1.2. Presencia de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. y medidas de control en las industrias seleccionadas**

A continuación se presentan los datos obtenidos en cada una de las 35 industrias estudiadas. Inicialmente figura una representación gráfica de la presencia de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la planta con respecto a un producto característico según su especialidad productiva (los consabidos 5 grupos) y a una superficie, también característica, de ese tipo de industria en las sucesivas visitas con toma de muestras que se han realizado.

Después se continúa con la descripción, en una tabla, de las medidas de control que se tomaron en la industria ante los resultados que iban apareciendo.

#### 4.1.2.1. Industria A1. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

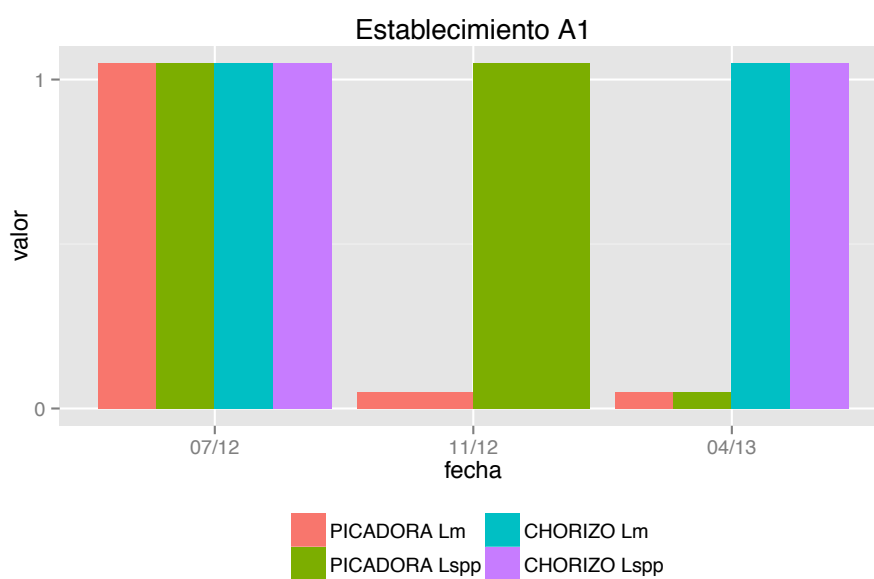


Figura 10. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A1 (chorizo y superficie de la picadora)

Tabla 19. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A1 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A1	
Medidas	Frecuencia
Estudios vida útil	2
Etiquetado	2
Análisis de superficies	2
Caracterización pH y $a_w$	2
Modificación RGSEAA	1
Retirada de producto	1
Aditivos concentración	1
Homologación de proveedores	1
MCA	1
Limpieza y desinfección (procedimientos)	1
APPCC descripción de productos	1

RGSEAA (registro general sanitario de empresas alimentarias y alimentos); MCA (materiales en contacto con alimentos); APPCC (sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico)

Esta industria experimenta a lo largo de las tres visitas una mejoría en cuanto a las superficies hasta no detectarse *Listeria* en la picadora, aunque en el producto se mantiene la detección de *L. monocytogenes* en valores inferiores a 10 ufc/g y *Listeria* spp.

Consideramos que la medida de control aplicada de mejora de los procedimientos de limpieza y desinfección, junto con la realización de muestreos microbiológicos para comprobar su eficacia, podrían ser los responsables principales de la mejoría. Además, la caracterización (estandarización) de los productos en cuanto a pH y  $a_w$  junto a los estudios de vida útil llevados a cabo, pueden ofrecer garantías adicionales de que a lo largo de la vida del producto no se superará el límite reglamentario de 100 ufc/g.

La caracterización del producto, incluyendo las condiciones de conservación asociadas, tendría que considerar siempre el estudio de variabilidad que se puede dar en un mismo lote y también entre diferentes lotes de producción (R. 2073/2005; anexo II). Tener en cuenta esta variabilidad es esencial para conocer y evaluar diferentes escenarios posibles, especialmente del tipo “en el peor de los casos” y para poder aplicar márgenes de seguridad conservadores en su vida útil evaluando la seguridad del producto en cuestión (FSAI, 2014b).

#### 4.1.2.2. Industria A2. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

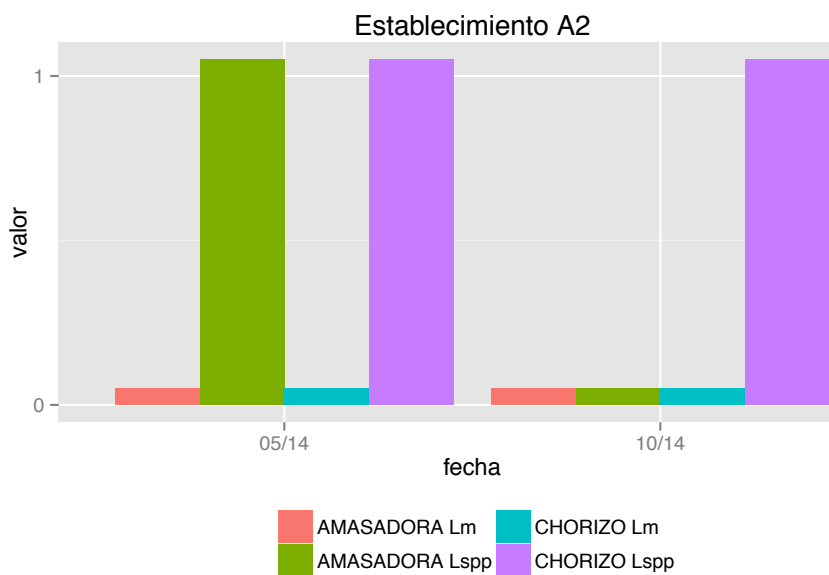


Figura 11. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A2 (chorizo y superficie de la amasadora)

Tabla 20: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A2 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A2	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	2
MCA	2
Caracterización pH y $a_w$	2
Homologación de proveedores	2
L D biocida	1
L D desmontado de equipos	1
L D procedimiento	1
L D rotación	1
L D secado	1
L D superficies NFC	1
Análisis de tendencias	1
Incremento del tiempo de curación	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección); NFC (superficie que no está en contacto directo con el alimento)

Esta industria es visitada en dos ocasiones mejorando los resultados de la superficie de la amasadora que, en la segunda ocasión, ya no registra presencia de *Listeria*. En cuanto al chorizo, en ninguno de los muestreos se detecta *L. monocytogenes*, pero en ambos es detectado el indicador *Listeria* spp.

En lo referente a las medidas de control aplicadas se han dividido en tres grupos principales: las que hacen referencia al plan de limpieza y desinfección que ofrecen buenos resultados verificados por la ausencia de detección en superficies, las que afectan a la homologación de proveedores que también serán positivas para mejorar las materias primas y las que están relacionadas con los estudios de vida útil y caracterización que facilitarán el cumplimiento de la legislación UE. Los estudios de vida útil realizados tienen en cuenta modelos matemáticos predictivos recientes, como el de la supervivencia de *L. monocytogenes* durante la fermentación, maduración y almacenaje de productos cárnicos fermentados (Hwang y cols., 2009).



## 4.1.2.3. Industria A3. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza)

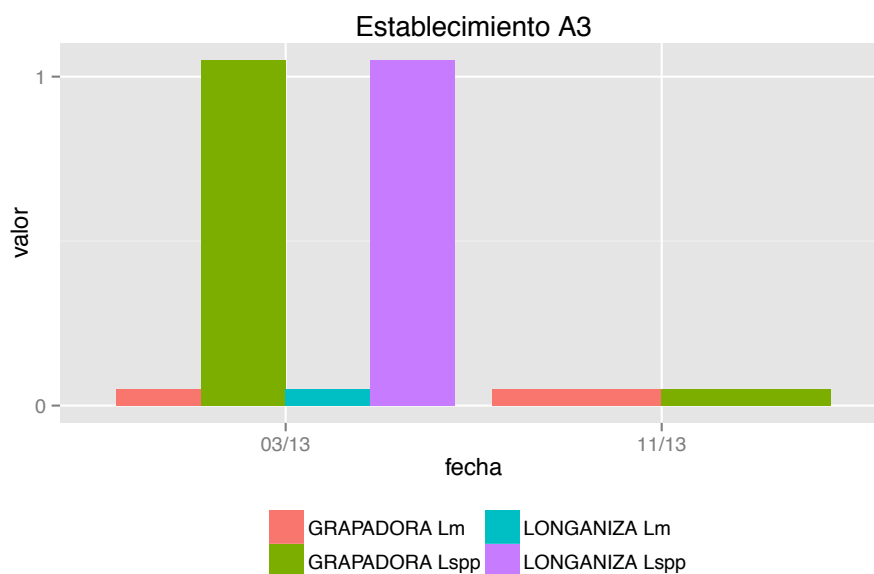


Figura 12. Evolución *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A3 (longaniza y superficie de la grapadora)

Tabla 21: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A3 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A3	
Medidas	Frecuencia
MCA	2
L D aire acondicionado	2
L D procedimiento	2
L D secado	2
Incremento del tiempo de curación	2
Destrucción de producto	1
Retirada de producto	1
Sustitución e incorporación de equipos secadero	1
Etiquetado	1
L D biocida	1
L D rotación	1
Incremento muestras verificación producto	1
Incremento muestras verificación superficies	1
Cambios procesos elaboración orden	1
APPCC descripción de productos	1
APPCC revisión	1
Caracterización pH y $a_w$	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

Evolución positiva en los resultados de las superficies. En la grapadora de los embutidos, en segunda visita, ya no aparece *Listeria*. En cuanto a la longaniza tampoco se detectó *L. monocytogenes* y si *Listeria* spp. Las medidas de control se han dirigido al plan de limpieza y desinfección y a incrementar las muestras de verificación con buenos resultados. Además se han caracterizado los productos en cuanto a pH y  $a_w$ , se ha incrementado el periodo de curación para conseguir productos más seguros y también ha habido sustitución de equipos en el secadero por encontrarse deteriorados y ofrecer dificultad a la limpieza.

La medida de caracterización del producto aplicada nos parece muy adecuada coincidiendo con AESAN (2011) en que es imprescindible disponer de información específica sobre el alimento en cuestión (características intrínsecas y extrínsecas) y considerando además que una completa descripción de los productos, desde el punto de vista de seguridad alimentaria, es una tarea preliminar en todo sistema APPCC.

#### 4.1.2.4. Industria A4. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

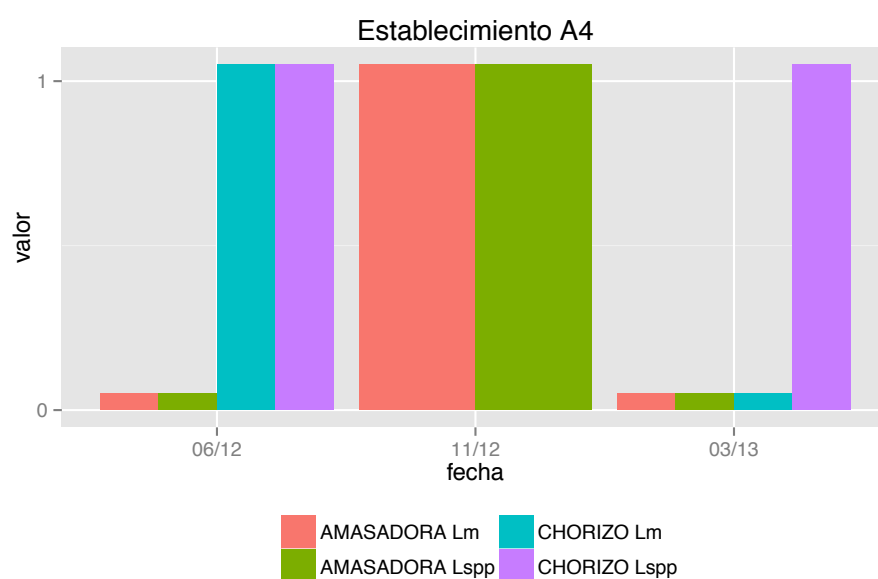


Figura 13. Evolución *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A4 (chorizo y superficie de la amasadora)

Tabla 22. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A4 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A4	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	2
Modificación RGSEAA	1
Retirada de producto	1
Aditivos concentración	1
Homologación proveedores	1
MCA	1
Desinfección ambientales	1
L D específica de choque	1
L D rotación	1
L D secado	1
Análisis de tendencias	1
Incremento muestras verificación materias primas	1
Incremento muestras verificación producto	1
Incremento muestras verificación superficies	1
Favorecer fermentación cultivo acidolácticos	1
APPCC revisión	1
Caracterización pH y $a_w$	1

RGSEAA (registro general sanitario de empresas alimentarias y alimentos); MCA (materiales en contacto con alimentos) MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

A lo largo de las tres visitas la superficie de la amasadora experimenta un pico central detectándose tanto *Listeria monocytogenes* como *Listeria* spp. y posteriormente queda corregido. En el primer muestreo el chorizo presenta *L. monocytogenes*. En la última visita ya no hay detección de *L. monocytogenes* y los procesos han mejorado la seguridad del producto, aunque continúa detectándose *Listeria* spp.

La primera medida de control tomada tuvo que ser drástica y supuso la retirada del producto del mercado por no ser apto para el consumo, según el R. 2073/2005, debido a la presencia de *L. monocytogenes*. Las medidas de control se encaminaron al plan de limpieza y desinfección y

a sus verificaciones, incluyendo también desinfecciones ambientales. Se mejoró la homologación de proveedores y la caracterización de los productos unida a la realización de estudios de vida útil. Asimismo, se modificaron los procesos productivos mediante cambios en la concentración de aditivos empleada y favoreciendo la fermentación por medio de cultivos acidolácticos. El uso de lactobacilos formadores de bacteriocinas con actividad anti-*Listeria* como cultivos iniciadores, reduce los recuentos del *Listeria* spp. aproximadamente en un logaritmo al inicio de la fermentación (Foegeding y cols., 1992; Hugas y cols., 1995).

#### 4.1.2.5. Industria A5. Elaboradora de productos picados crudos curados (salchichón)

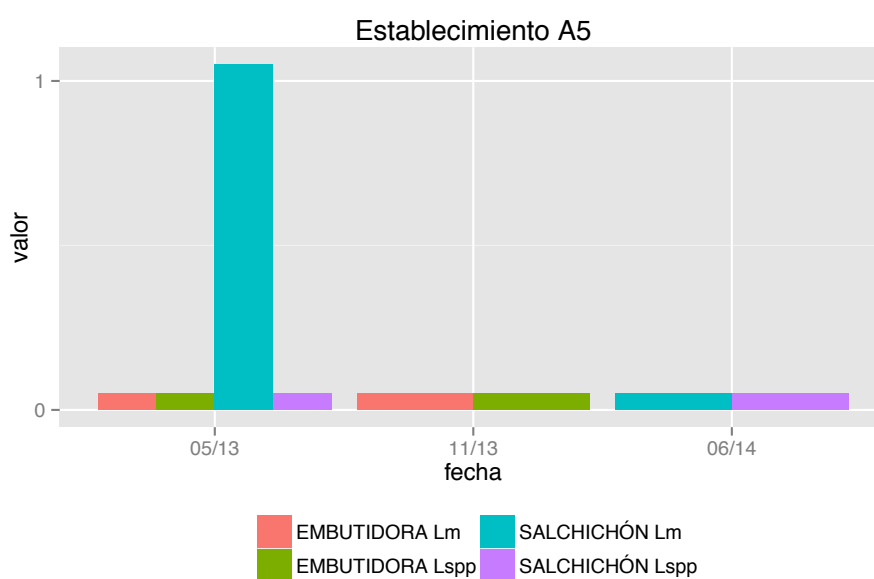


Figura 14. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A5 (salchichón y superficie de la embutidora)

Tabla 23. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A5 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A5	
Medidas	Frecuencia
MCA	2
Caracterización ph y $a_w$	2
Estudios vida útil	1
Medidas de control frente a positivos	1
Plan mantenimiento equipos	1
Etiquetado	1
L d biocida	1
L d procedimiento	1
Análisis tendencias	1
Incremento muestras verificación superficies y producto	1
Laboratorio técnicas análisis	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

Los resultados de las superficies de la embutidora fueron satisfactorios en todas las visitas. En el salchichón hubo presencia de *Listeria monocytogenes* en el primer muestreo y ya no se detectó posteriormente con una evolución claramente positiva. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la transición entre las condiciones que favorecen y las que no favorecen es, a menudo, muy estrecha y pequeños cambios en las características del producto o en las condiciones de conservación, pueden hacer que se de ese cambio. Esto supone que es necesario aplicar un margen de seguridad en estas condiciones (Mc Meekin y cols., 2000; Tienungoon y cols., 2000) y así se les transmitió para que el refuerzo de los controles incrementase las garantías de seguridad del producto.

Las medidas de control afectaron al plan de limpieza y desinfección y al plan de mantenimiento estableciéndose mejoras en las frecuencias, a la caracterización del pH y la  $a_w$  de los productos junto a los estudios de vida útil para mejorar su seguridad y al laboratorio en cuanto a exigir las técnicas analíticas de referencia y a realizar el estudio de tendencias con los resultados obtenidos.

#### 4.1.2.6. Industria A6. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza)

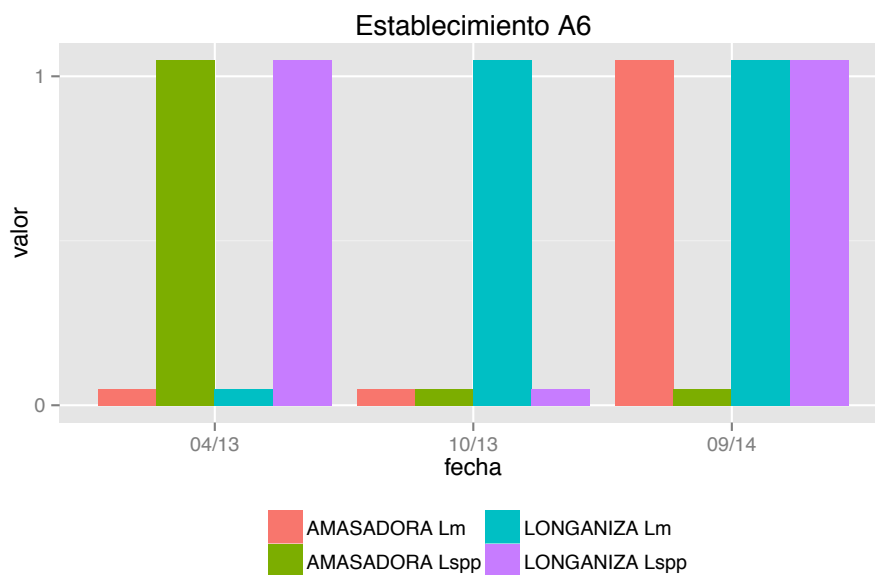


Figura 15. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A6 (longaniza y superficie de la amasadora)

Tabla 24. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A6 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A6	
Medidas	Frecuencia
APPCC revisión	3
Estudios de vida útil	2
Caracterización pH y $a_w$	2
Modificación RGSEAA	1
Homologación de proveedores	1
Plan mantenimiento	1
Etiquetado	1
L D procedimiento	1
L D secado	1

RGSEAA (registro general sanitario de empresas alimentarias y alimentos); LD (limpieza y desinfección)

La longaniza presentó unos resultados irregulares con presencia en 25 g y un recuento de menos de 10 ufc/g en el último muestreo. Las superficie de la amasadora tampoco tiene una tendencia clara.

Han tomado medidas de control realizando estudios de vida útil y caracterizando el pH y la  $a_w$  con el objetivo de asegurar que al final de su vida útil no se superará el límite reglamentario. En el plan de limpieza y desinfección han mejorado procedimientos e incorporado el secado final de los equipos. También se ha revisado el plan de mantenimiento.

Debido a esa irregularidad en los resultados, se les indicó la posible presencia de biofilms, particularmente en fondos ciegos, esquinas y grietas (Schöbitz y cols., 2014) y también los métodos para poder detectarlos. Finalizado el plan anual continuó en seguimiento.

#### 4.1.2.7. Industria A7. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza)

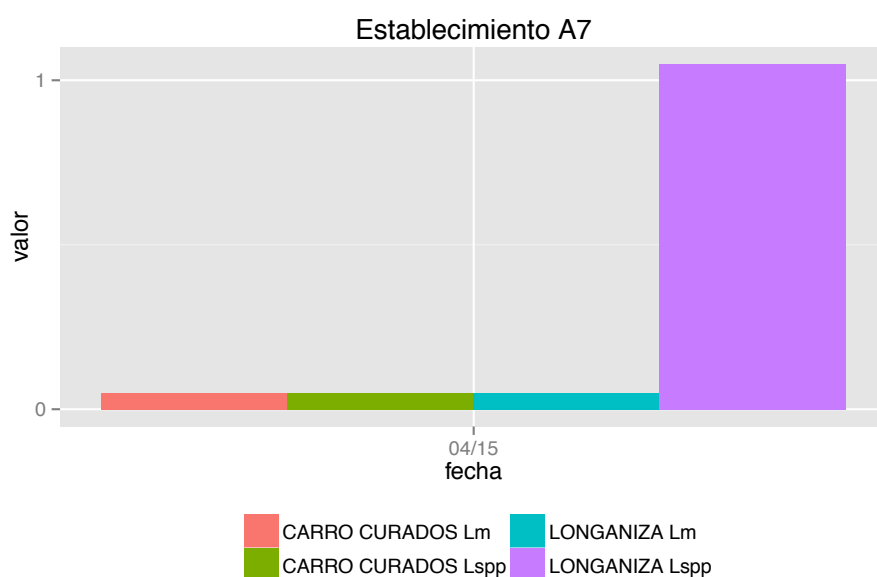


Figura 16. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A7 (longaniza y superficie del carro de curados)

Tabla 25. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A7 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A7	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	1
MCA	1
L D biocida	1
L D procedimiento	1
APPCC descripción de productos	1
Caracterización pH y $a_w$	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

Las superficies han tenido un resultado favorable y en la longaniza no se ha detectado *Listeria monocytogenes*, pero si presencia del indicador *Listeria* spp. en 25 g.

Tomaron medidas de control para caracterizar los productos en cuanto a pH y  $a_w$  y realizaron estudios de vida útil. Se ha buscado potenciar la fermentación mediante el uso de cultivos estériles con lactobacilos. En este último aspecto, podría darse el caso de que *L. monocytogenes* pudiera crecer durante los primeros días de los procesos de fermentación si los valores de pH y  $a_w$  lo permiten. Sin embargo, las características del producto resultante ejercerán efectos bacteriostáticos, contribuyendo a la inhibición del crecimiento del *L. monocytogenes* durante la conservación a lo largo de la vida útil del producto (Jofré y Garriga, 2011). También incorporaron mejoras en el plan de limpieza y desinfección, en cuanto a procedimientos y al uso de biocidas más eficaces frente a *Listeria*.



## 4.1.2.8. Industria A8. Elaboradora de productos cocidos (butifarra)

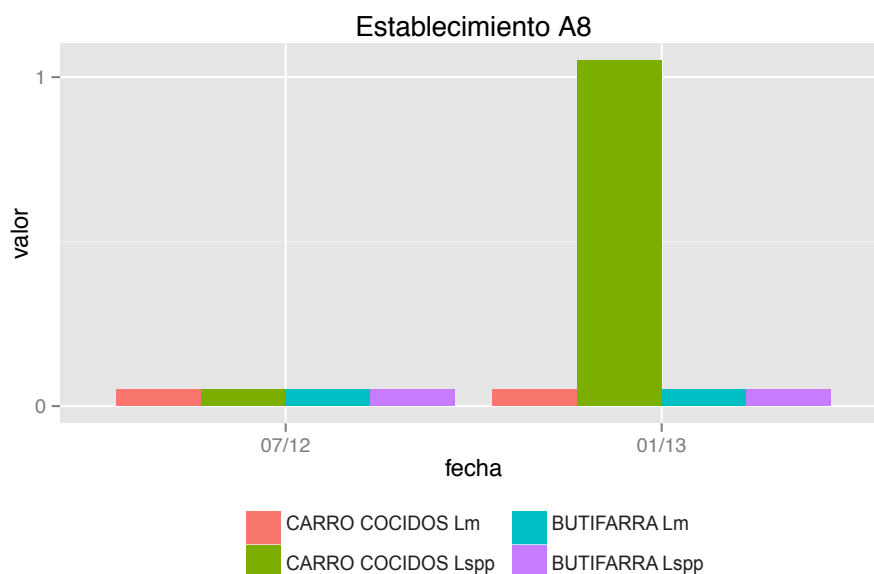


Figura 17. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de cocidos A8 (butifarra y superficie del carro transporte de cocidos)

Tabla 26. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A8 (cocidos)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A8	
Medidas	Frecuencia
Aditivos manejo	2
L D formación	2
L D procedimiento	2
L D secado	2
Laboratorio técnicas análisis	2
Reducción del tiempo de enfriamiento en cocidos	2
Cambio en operativos orden	2
Implantación PNCH	2
APPCC establecer PCC	2
Caracterización pH y $a_w$	2

LD (limpieza y desinfección); PNCH (programa normalizado de control de la higiene)

No hubo ningún hallazgo de *Listeria* en la butifarra. En cuanto a las superficies nos aparece el indicador *Listeria* spp. en un carro de transporte.

Las medidas de control han sido establecer un PCC en el tratamiento térmico (aspecto fundamental), reducir la exposición posletal acortándola y mejorar las condiciones de higiene implantando el programa normalizado de control de la higiene (PNCH) frente a la contaminación cruzada. También se hicieron modificaciones en el plan de limpieza y desinfección mejorando los procedimientos, la elección de biocidas e incorporando el secado final de los equipos. Sobre el secado de los equipos existe un acuerdo general en que se trata de un punto importante para el control de *L. monocytogenes*. Así aparece reflejado en diferentes guías para los industriales y entre ellas: “*Listeria* guidance and best practices in produce facilities” (Raede, 2015). Del mismo modo, se revisaron las técnicas analíticas del laboratorio y se introdujo un cambio en el orden de producción para procesar en primer lugar, con la industria perfectamente limpia, los productos cocidos teniendo en cuenta su mayor susceptibilidad a la potencial contaminación.

#### 4.1.2.9. Industria A9. Elaboradora de productos en salazón (jamón curado)

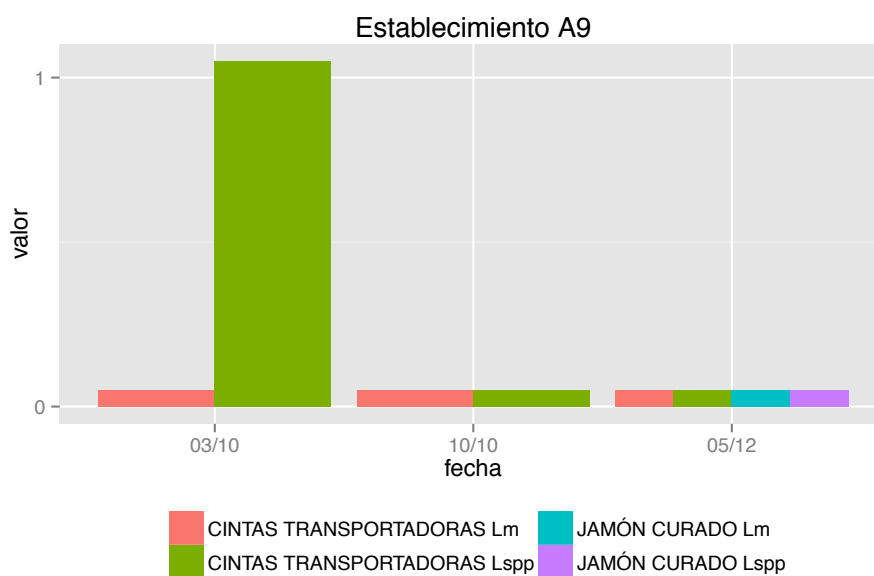


Figura 18. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de salazones A9 (jamón curado y superficie de la cinta transportadora)

Tabla 27. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A9 (salazones)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A9	
Medidas	Frecuencia
PNCH	3
Homologación de proveedores	2
L D biocida	2
L D procedimiento	2
L D secado	2
Estructurales separación fresco procesado	1
Sustitución e incorporación de equipos	1
Formación específica manipulador	1
L D rotación	1
Incremento muestras verificación producto	1
Incremento muestras verificación superficies	1
Laboratorio acreditación	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1
Tolerancia en superficies	1
APPCC justificaciones científico técnicas	1
Caracterización pH y $a_w$	1

PNCH (programa normalizado de control de la higiene); LD (limpieza y desinfección)

Se trata de un secadero de jamones en el que el jamón analizado no ha presentado ninguna incidencia y en la superficie de mayor contacto directo, como es la cinta transportadora, en primera visita se detectó *Listeria* spp., corrigiéndose en las siguientes. Un importante trabajo científico publicado en 2013 considera el riesgo asociado a la contaminación y/o crecimiento de *L. monocytogenes* en jamón curado entre bajo y muy bajo (Innovac, 2013; Aymerich y cols., 2014).

Las medidas de control hacen referencia a ajustes en el programa normalizado de control de la higiene (PNCH), mayores exigencias a los proveedores de materias primas, sustitución de superficies de contacto directo de teflón por acero inoxidable y separación completa de la zona de productos frescos y de elaborados, mediante accesos y vestuarios independientes. También se revisaron las técnicas analíticas y la tolerancia de las verificaciones en superficies frente a *Listeria* que pasó a ser “cero”. Dentro del plan de limpieza y desinfección se insistió en el secado de equipos y en la rotación de biocidas.

4.1.2.10. Industria A10. Elaboradora de productos en salazón (lomo ibérico)

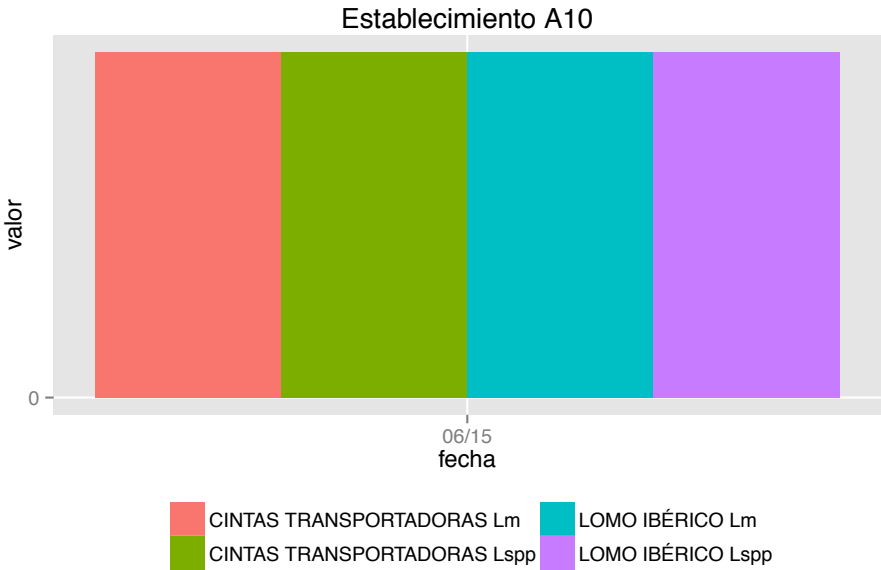


Figura 19. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de salazones A10 (lomo ibérico y superficie de la cinta transportadora)

Tabla 28. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A10 (salazones)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A10	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	4
L D procedimiento	4
MCA	2
PNCH implantación	2
Investigación causas	1
Homologación de proveedores	1
Etiquetado	1
L D biocida	1
Análisis de tendencias	1
Incremento muestras verificación superficies y producto final	1
Laboratorio introducir técnicas	1
Laboratorio técnicas muestreo	2

Externalización servicios loncheo	1
APPCC análisis de riesgo	1
APPCC descripción de productos	1
APPCC diagramas de flujo	1
APPCC justificaciones científico técnicas	1
APPCC registros	1
APPCC verificación	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección); MCA (materiales en contacto con alimentos); PNCH (programa normalizado de control de la higiene)

En esta industria de salazones cárnicas, hemos encontrado incidencias con la presencia de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp. tanto en el lomo ibérico como en la cinta transportadora. Los valores de *L. monocytogenes* siempre han sido menores de 10 ufc/g. Ante esto, tanto la caracterización mediante el pH y la  $a_w$  como los estudios de vida útil cobran especial importancia para determinar tiempos mínimos de curado y poder ofrecer garantías. La determinación de la vida útil segura de los alimentos es una responsabilidad y obligación de los elaboradores y forma parte de las medidas de control para garantizar el cumplimiento de los criterios microbiológicos de seguridad alimentaria en relación con *L. monocytogenes* (R. 2073/2005; anexo II; FSAI, 2014b).

Se implantó el programa normalizado de control de la higiene (PNCH) frente a la contaminación cruzada e incrementaron las exigencias a los proveedores en su homologación. En lo referido al laboratorio, se introdujeron nuevas determinaciones (*Listeria* spp., investigación de *L. monocytogenes* porque solamente se hacía recuento y determinación de ATP como verificación de la limpieza de las superficies), se incrementó el número de muestras y se analizaron las tendencias. En el plan de limpieza y desinfección hubo cambios de biocidas y de procedimientos. Finalmente se implantó una investigación de causas sistemática para dirigir las medidas a la fuente de contaminación.

## 4.1.2.11. Industria A11. Elaboradora de platos preparados cárnicos (rotí de pollo)

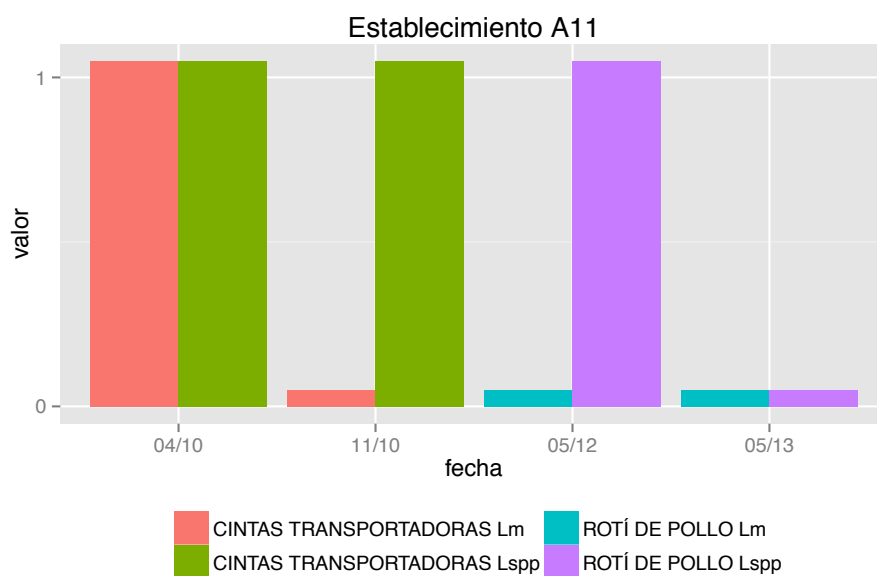


Figura 20. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de platos preparados cárnicos A11 (rotí de pollo y superficie de la cinta transportadora)

Tabla 29. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A11 (platos preparados cárnicos)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A11	
Medidas	Frecuencia
Investigación causas	2
Sustitución e incorporación de equipos	2
MCA	2
Exposición posletal	2
Incremento muestras verificación superficies y producto	2
Laboratorio técnicas análisis	2
Laboratorio técnicas muestreo	2
Procedimiento pre y operativo revisión	2
Tolerancia en superficies	2
Diseño higiénico equipos	1
Control potabilidad agua	1
Formación específica manipulador	1
Homologación proveedores	1
Plan de mantenimiento	1

Condensaciones y salpicaduras	1
Desinfección ambientales	1
L D biocida	1
L D procedimiento	1
L D secado	1
Laboratorio acreditación	1
Laboratorio introducir técnica <i>Listeria</i> spp.	1
Incorporar tratamiento posletal	1
APPCC análisis riesgo	1
APPCC descripción de productos	1
APPCC registros	1
APPCC verificación	1
Caracterización pH y $a_w$	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

Los resultados de las superficies evolucionaron positivamente en cuanto a *Listeria monocytogenes* en las cintas transportadoras, aunque se mantuvo el indicador *Listeria* spp. con el riesgo que ello supone. El producto rotí de pollo también evolucionó bien desapareciendo la contaminación inicial por *Listeria* spp.

Las medidas de control, al tratarse de productos tratados por calor, se basaron en disminuir las exposición posletal, evitar condensaciones, mediante la instalación de equipos de extracción e insistir con formación y procedimientos de trabajo, particularmente dirigidos al personal de esta área. En cuanto al laboratorio, se sustituyeron los equipos de muestreo (hisopos) y las técnicas rápidas usadas por sus deficientes resultados. Se incrementó el número de muestras de superficies y productos, se modificó la tolerancia existente para muestras de *Listeria* en superficies para que fuera “cero” y se introdujo la determinación analítica *Listeria* spp. como indicador. En lo referente al plan de limpieza y desinfección se introdujeron procedimientos operativos intermedios de limpieza de las cintas transportadoras, se realizaron cambios en el tipo de biocidas y su rotación y en el secado final de los equipos. Finalmente las dos modificaciones de mayor calado fueron trasladar todo el envasado de productos LPC a la sala de atmósfera controlada y aplicar un tratamiento posletal consistente en una pasteurización de 90°C/15 min, a todos los LPC, una vez envasados. Se trata por tanto de una industria con dos tratamientos térmicos (letal y posletal). El letal se ajusta a

lo que establece la *Campden and Chorlewood Food Research Association* sobre la pasteurización de alimentos (Gaze, 2006).

#### 4.1.2.12. Industria A12. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

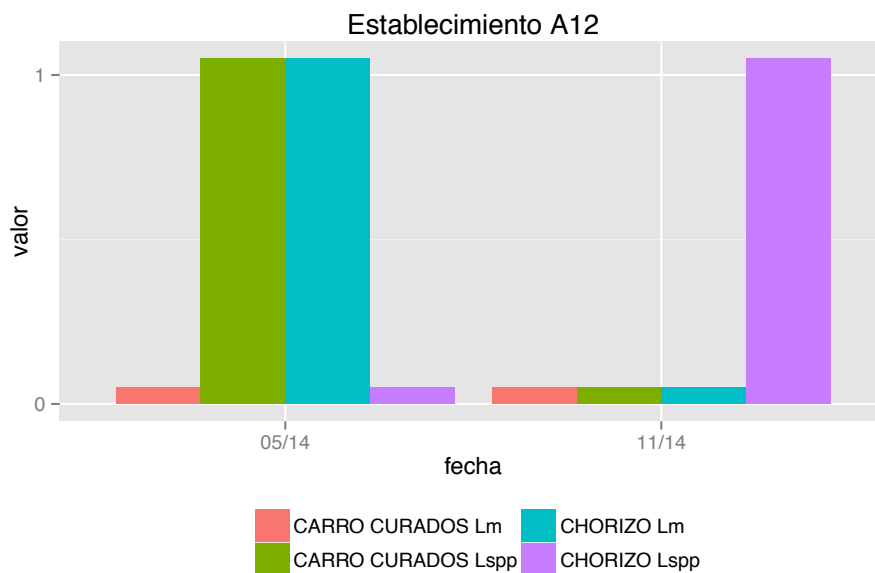


Figura 21. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A12 (chorizo y superficie del carro de curados)

Tabla 30. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A12 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A12	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	2
Investigación causas	2
Homologación de proveedores	1
MCA	1
Plan de mantenimiento	1
L D biocida	1
L D procedimiento	1
L D rotación	1
Procedimiento pre y operativo revisión	1
APPCC revisión	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)



Los resultados del chorizo han mejorado pasando de presencia de *L. monocytogenes* en 25 g, a no detectarse. En la superficie de un carro de curados no se ha detectado contaminación por *Listeria*.

Las medidas de control consistieron en revisar el plan de limpieza y desinfección en cuanto a cambiar de biocida y su procedimiento de aplicación, así como establecer una rotación trimestral. También se revisó el plan de mantenimiento y se incluyó la exigencia de presentar resultados microbiológicos a los proveedores. Se sistematizó la investigación de causas ante cualquier no conformidad microbiológica y se continuó con los estudios de vida útil que la empresa había iniciado para generalizarlos a todos los productos LPC elaborados. En la realización de estos estudios se les indicó que deben ser cautelosos con las herramientas empleadas y con la interpretación de resultados. En este sentido, AESAN (2011) recomienda que conviene consultar con una entidad competente y con experiencia en su realización.

#### 4.1.2.13. Industria A13. Elaboradora de productos picados crudos curados (secallona)

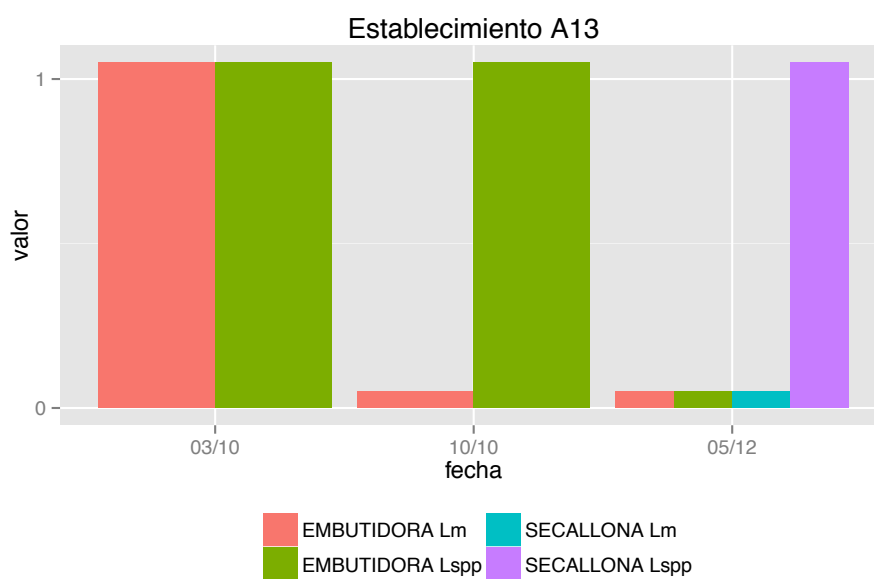


Figura 22. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados A13 (secallona y superficie de la embutidora)

Tabla 31. Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A13 (picados crudos curados)

<b>Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A13</b>	
<b>Medidas</b>	<b>Frecuencia</b>
Estudios de vida útil	2
Aditivos etiquetado	2
Incremento muestras verificación superficies y producto	2
Homologación de proveedores	1
MCA	1
L D procedimiento	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1
Externalización servicios loncheado	1
Incremento periodos curación mínimos	1
APPCC descripción de productos	1
APPCC justificaciones científicotécnicas	1
APPCC verificación	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

En los resultados de las superficies la evolución en las tres visitas es satisfactoria pasando de presencia de *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.*, a presencia de solamente *Listeria spp.* y a ausencia en la embutidora finalmente. En cuanto a la secallona se observa que no hay presencia de *L. monocytogenes*, pero si del indicador con el consiguiente riesgo.

Las medidas de control tomadas consistieron en implantar un periodo mínimo de curación que hasta entonces no estaba claramente establecido y era un espacio discrecional, en realizar estudios de vida útil, en exigir resultados microbiológicos a los proveedores en su homologación y en mejorar la técnica de muestreo de superficies usando toallitas prehumedecidas y de análisis aplicando el método propio, pero enviando también muestras de verificación a laboratorio externo acreditado. Se les recomendaron medidas en cuanto al equipo y a la metodología de muestreo que aparecen en un documento de AECOSAN (2015).

## 4.1.2.14. Industria A14. Elaboradora de platos preparados cárnicos (costilla de cerdo asada)

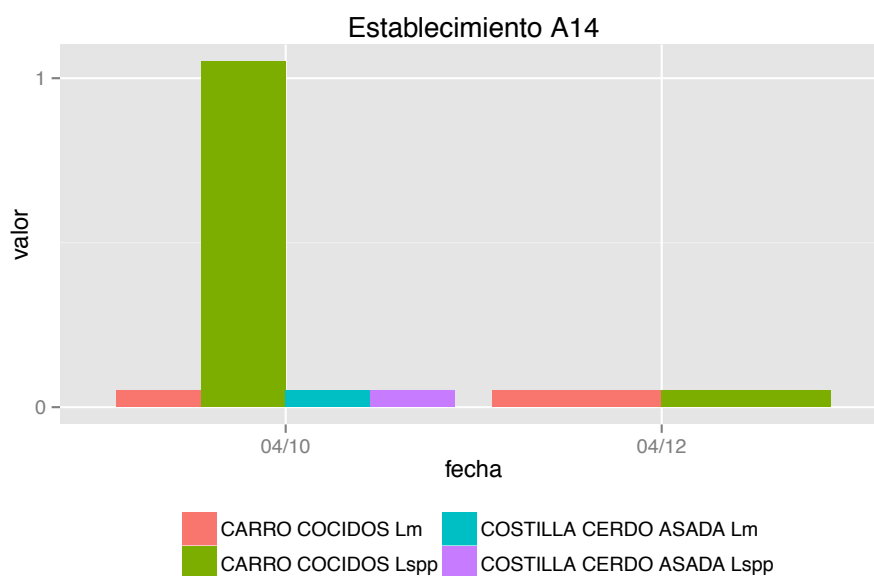


Figura 23. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de platos preparados cárnicos A14 (costilla de cerdo asada y superficie del carro de cocidos)

Tabla 32: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento A14  
(platos preparados cárnicos)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento A14	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	2
MCA	2
Exposición posletal	2
Incremento muestras	2
Verificación superficies y producto procedimiento pre y operativo	2
Revisión investigación causas	1
Diseño higiénico de equipos	1
Aditivos concentración	1
Aditivos etiquetado	1
Aditivos retirada	1
Formación específica manipulador	1
Homologación de proveedores	1
Plan de mantenimiento	1

Condensaciones y salpicaduras	1
Desinfección ambientales	1
LD biocida	1
LD desmontado de equipos	1
LD procedimiento	1
Introducir analíticas ambientales	1
Laboratorio introducir técnica <i>Listeria</i> spp.	1
Tolerancia en superficies	1
APPCC descripción de productos	1
APPCC justificaciones científicotécnicas	1
APPCC establecer (PCC)	1
APPCC revisión	1
APPCC verificación	1
Caracterización pH y $a_w$	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

Se trata de un plato preparado cárnico sometido a tratamiento por calor sin incidencias de contaminación por *Listeria*. Los resultados de las superficies también evolucionan satisfactoriamente hasta no detectarse.

En los platos preparados cárnicos debe tenerse en cuenta que las características fisicoquímicas y de composición de la matriz alimenticia influyen notablemente en la resistencia de los microorganismos a los tratamientos térmicos. En general, los medios ácidos favorecen la letalidad del proceso. Por el contrario, una concentración alta de solutos con una  $a_w$  baja protege a *Listeria monocytogenes* frente a los tratamientos térmicos (Lado y Yousef, 2007; Van Lieverloo y cols., 2013).

En cuanto a las medidas de control, se mejoraron las condiciones higiénicas de la zona de exposición posletal, evitando condensaciones mediante extracción. En el plan de limpieza y desinfección se introdujo un nuevo biocida para la sala de envasado, se incluyeron desinfecciones y analíticas ambientales y también la determinación del parámetro *Listeria* spp. como indicador. Se incrementaron las muestras de verificación tanto de superficies como de producto. Se realizaron actividades formativas para los manipuladores y se sistematizó la investigación de las causas ante no conformidades microbiológicas. Continuaron extendiendo los estudios de vida útil a todos los productos.

## 4.1.2.15. Industria B1. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

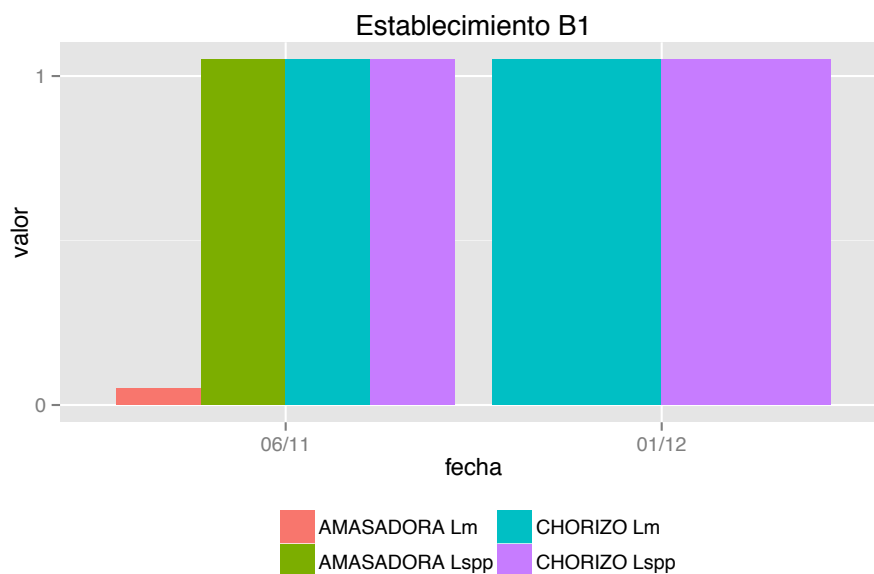


Figura 24. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados B1 (chorizo y superficie de la amasadora)

Tabla 33: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B1 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B1	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	2
Incremento muestras	2
Verificación superficies y producto caracterización pH y $a_w$	2
Retirada de producto	1
Aditivos etiquetado	1
Homologación de proveedores	1
Cambio proveedores etiquetado	1
Laboratorio acreditación	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1
Incremento del tiempo de curación	1
Procedimiento pre y operativo revisión	1
APPCC análisis de riesgo	1
APPCC descripción de productos	1
APPCC revisión	1

Esta industria no presenta mejoría en cuanto a resultados, manteniendo en el chorizo los niveles de contaminación en una y otra toma de muestras con presencia de *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp* en 25 g. Estos datos de presencia de *Listeria* aparecen igualmente en la amasadora. Tuvieron que retirar el lote afectado, al no poder justificar que a lo largo de su vida útil no superaría las 100 ufc/g. La normativa de la UE tolera la presencia de *L. monocytogenes*, siempre que la concentración no supere las 100 ufc/g durante la vida útil establecida y el criterio es equivalente al objetivo de seguridad alimentaria (FSO) adoptado internacionalmente para *L. monocytogenes* (ICMSF, 2006).

Por ello, debieron abordar la descripción de los productos caracterizándolos en cuanto a pH y  $a_w$  y realizar los correspondientes estudios de vida útil. Se deshomologó a un proveedor sustituyéndolo y se tomaron medidas en relación con las técnicas laborales exigiendo la utilización de los métodos de referencia (UNE-EN-ISO 11290-1 y 2). Además se modificó el equipo de muestreo de superficies, pasando a utilizar toallitas prehumedecidas. En los procesos se incrementó el tiempo de curación de los embutidos.

#### 4.1.2.16. Industria B2. Elaboradora de productos loncheados (jamón loncheado)

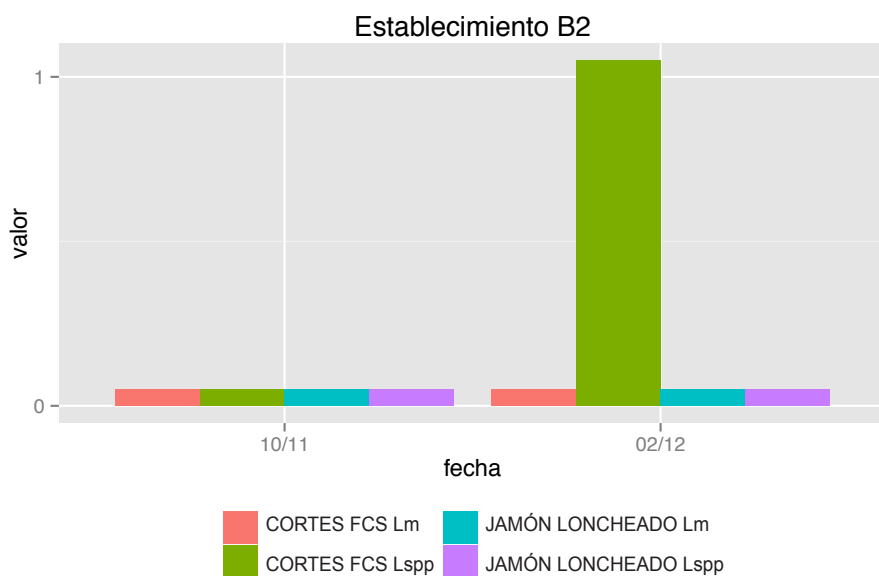


Figura 25. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria spp.* en la industria de loncheados B2 (jamón loncheado y superficie del corte)

Tabla 34: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B2 (loncheados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B2	
Medidas	Frecuencia
Investigación causas	2
Plan específico de control de <i>Listeria</i>	2
Etiquetado	2
LD procedimiento	2
Incremento muestras verificación superficies y producto	2
Laboratorio acreditación	2
Estudios de vida útil	1
Retirada de producto	1
Formación específica manipulador	1
Homologación de proveedores	1
Alfombra antimicrobiana	1
LD biocida	1
LD desmontado de equipos	1
LD específica de choque	1
Incremento muestras verificación manipuladores	1
Incremento muestras verificación materias primas	1
Laboratorio introducción técnica ATP	1
Incremento del tiempo de curación	1
PNCH revisión	1
APPCC análisis de riesgo	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección); ATP (trifosfato de adenosina);

PNCH (programa normalizado de control de la higiene)

Los muestreos han sido satisfactorios en el jamón loncheado y también en las superficies, salvo un caso que parece puntual, en una superficie de corte con presencia de *Listeria* spp.

En las medidas de control modificaron el etiquetado en el bacón retirándolo y etiquetándolo de nuevo debido a que no era un producto LPC, a pesar de que su etiqueta no indicaba que tuviera que tratarse por calor. Se redactó un plan específico de control de *Listeria*, que modificó a su vez,

el plan de limpieza y desinfección en procedimientos e incluyó cambios de biocida y el secado final de los equipos. En lo referente al laboratorio se sustituyó por uno acreditado incrementando el número de muestras tanto de superficies, materias primas y manipuladores, como de producto final al considerar que los análisis de producto terminado no garantizan, por si solos, la seguridad del producto. La obtención de resultados conformes podría dar una falsa sensación de seguridad (ICMSF, 2011). El adecuado nivel de seguridad alimentaria, se alcanza inicialmente con medidas preventivas y proactivas aplicadas en todas y cada una de las fases de producción, distribución, conservación, venta y consumo de los alimentos. También se introdujo la verificación de la limpieza por la determinación de presencia de ATP y actividades formativas sobre la ejecución, vigilancia y verificación del programa normalizado de control de la higiene (PNCH).

#### 4.1.2.17. Industria B3. Elaboradora de productos cárnicos cocidos (mortadela)

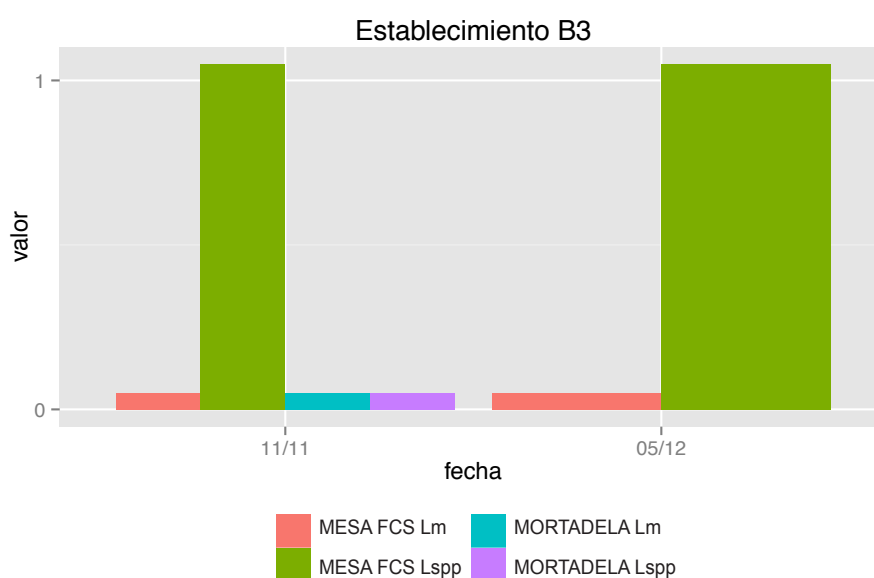


Figura 26. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de cocidos B3 (mortadela y superficie de la mesa de contacto)



Tabla 35: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B3 (cocidos)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B3	
Medidas	Frecuencia
LD procedimiento	2
Estudios de vida útil	1
Investigación causas	1
Plan específico control <i>Listeria</i>	1
Estructurales sustitución suelo	1
Control potabilidad agua	1
Formación específica manipulador	1
Formación específica responsables	1
Homologación de proveedores	1
Condensaciones y salpicaduras	1
LD biocida	1
LD nuevos equipos	1
LD secado	1
Incremento muestras verificación superficies y producto	1
Laboratorio introducir técnica <i>L. monocytogenes</i>	1
APPCC análisis de riesgo	1
APPCC revisión	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección)

Los resultados de la mortadela son satisfactorios sin detectarse *Listeria*. Con respecto a las superficies encontramos la presencia repetida de *Listeria* spp. en una mesa de contacto directo con los productos cocidos.

Se instaló un nuevo lavadero de cajas de contacto con el producto y un nuevo sistema de cloración y descalcificación del agua de la industria. Establecieron un plan específico de control de *Listeria* que incluyó mejoras en el plan de limpieza y desinfección, eliminando las condensaciones mediante extracción y secado, cambiando biocidas e introduciendo el secado de los equipos tras la limpieza. Se sustituyó un suelo de difícil higienización. Se caracterizaron los productos con respecto a pH y  $a_w$  y realizaron estudios de vida útil. Sería muy interesante que las empresas manejasen bibliografía como el estudio de investigadores del Danish Meat Research Institute que actualizaron

en el 2013 el modelo para predecir el crecimiento de *L. monocytogenes* en productos cárnicos cocidos LPC que fue utilizado por Gunvig y cols. (2007).

#### 4.1.2.18. Industria B4. Elaboradora de productos loncheados (salchichón)

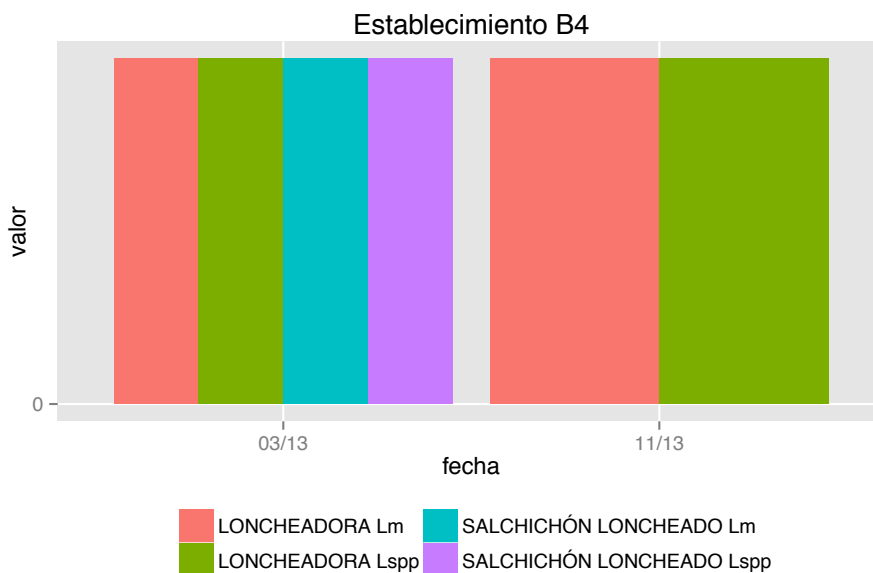


Figura 27. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de loncheados B4 (salchichón loncheado y superficie de la loncheadora)

Tabla 36: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B4 (loncheados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B4	
Medidas	Frecuencia
LD procedimiento	2
Condensaciones y salpicaduras	1
LD rotación	1
LD secado	1
Incremento muestras verificación superficies y producto	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1
APPCC análisis de riesgo	1
APPCC descripción registros	1
APPCC revisión	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección)

Este establecimiento no presenta mejoría, ni en cuanto a las superficies de la loncheadora ni en lo referente al salchichón loncheado. En ambos tipos de muestras, se detectan *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. En el producto el recuento es menor de 10 ufc/g.

Realizan caracterización del producto para poder demostrar que no se superará el límite reglamentario. Sustituyen sus equipos de muestreo por toallitas y esponjas y pasan a usar una técnica analítica con preincubación en lugar de una técnica rápida para la determinación de *Listeria*. Aplican mejoras en el plan de limpieza y desinfección en cuanto a biocidas y su rotación y a la introducción del secado de los equipos. También se les indica que deben tener en cuenta la hipótesis desarrollada por Carpentier y Cerf sobre la persistencia de las cepas de *L. monocytogenes* en el ambiente. Esta persistencia ocurre cuando por azar o accidente las células de *L. monocytogenes* alcanzan una “zona de refugio” en número suficiente para que algunas células sobrevivan tras varias limpiezas y desinfecciones. A medida que se incrementa la porción de población de células adheridas resistentes a la desinfección en esa zona, tienen el suficiente tiempo para adaptarse a las condiciones y reanudar su crecimiento. Mientras que la reducción de bacterias conseguida mediante limpieza y desinfección sea menor que su crecimiento, la erradicación de la bacteria es imposible (Carpentier y Cerf, 2011). Esta industria continuó en seguimiento.

#### 4.1.2.19. Industria B5. Elaboradora de productos loncheados (lomo ibérico)

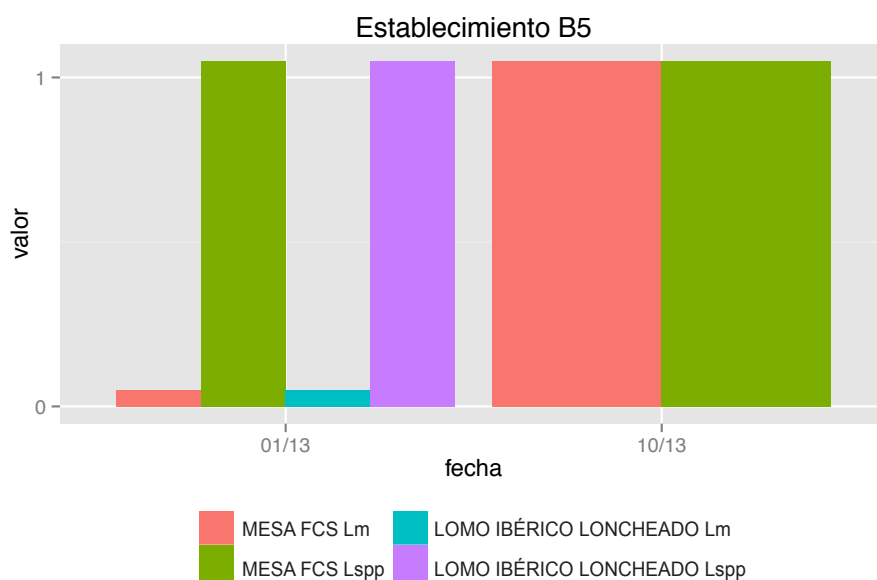


Figura 28. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de loncheados B5 (lomo ibérico loncheado y superficie de la mesa de contacto)

Tabla 37: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B5 (loncheados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B5	
Medidas	Frecuencia
Condensaciones y salpicaduras	1
LD biocida	1
LD procedimiento	1
LD secado	1
Incremento muestras verificación superficies y producto	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1
Procedimiento pre y operativo revisión	1
APPCC descripción de productos	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección)

En este establecimiento, en el lomo ibérico loncheado no se detecta *Listeria monocytogenes*, aunque si el indicador *Listeria* spp. También en la superficie de una mesa de contacto directo con el producto hay contaminación, tanto de la especie patógena como de otras especies de *Listeria*, sin tener una evolución favorable. Puede tratarse de una cepa persistente. En el ambiente de las plantas de procesado de alimentos pueden seleccionarse subtipos resistentes y dicha resistencia podría asociarse al fenotipo de persistencia (Ortiz, 2016).

Las medidas de control se han centrado en el plan de limpieza y desinfección, en implantar una limpieza operativa intermedia en la loncheadora, cintas y mesas de contacto y en revisar las técnicas de muestreo y análisis. Además se caracterizaron los productos.

## 4.1.2.20. Industria B6. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

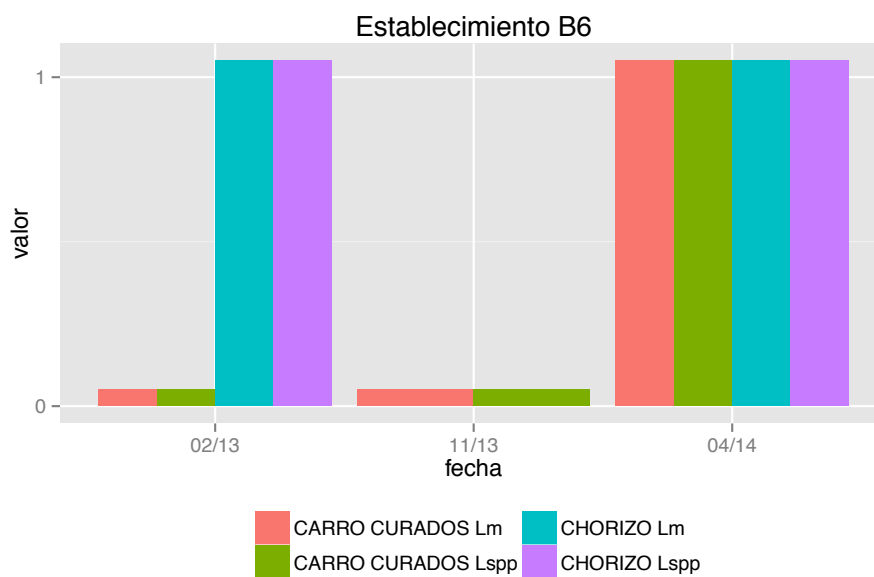


Figura 29. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados B6 (chorizo y superficie de carro de curados)

Tabla 38: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B6 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B6	
Medidas	Frecuencia
Etiquetado	1
LD procedimiento	1
LD secado	1
Incremento muestras verificación superficies y producto	1

LD (limpieza y desinfección)

Establecimiento con presencia de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. en chorizo. Los recuentos de *L. monocytogenes* fueron menores de 10 ufc/g. La superficie del carro de curados en la última visita presentó igualmente contaminación por *Listeria* habiendo sido negativa en visitas anteriores.

No se trata de un producto favorecedor del desarrollo de *L. monocytogenes* por sus características fisicoquímicas y sabemos que, en los productos cárnicos LPC, el riesgo de contraer listeriosis es entre 100 y 1000 veces superior en los que favorecen el crecimiento de *L. monocytogenes* (Gallagher y cols., 2003; ICMSF, 2011).

Las medidas de control se limitaron a modificar el etiquetado de la panceta porque no es un producto LPC, a incrementar las muestras de verificación de superficies y producto y a incluir el secado final en el plan de limpieza y desinfección. Ante estos resultados continuó en seguimiento.

4.1.2.21. Industria B7. Elaboradora de productos loncheados (jamón loncheado)

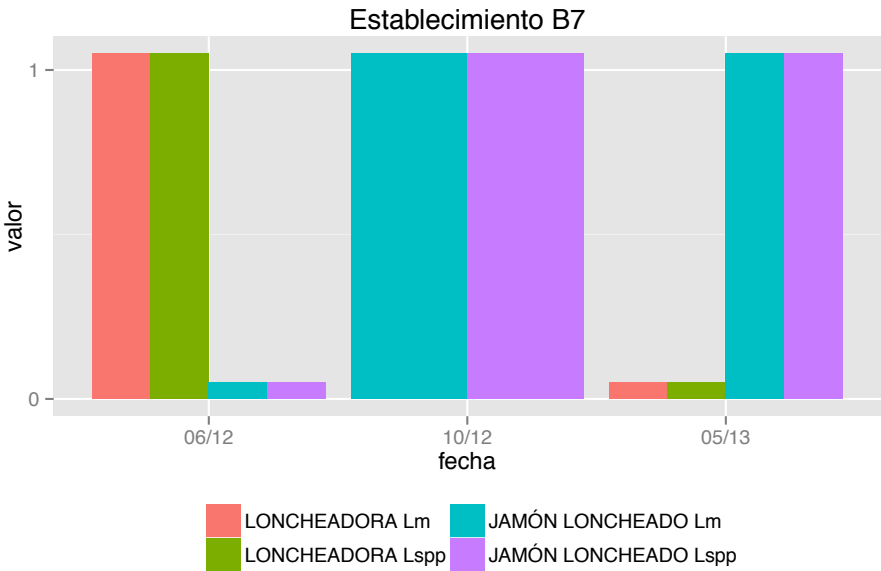


Figura 30. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de loncheados B7 (jamón loncheado y superficie de la loncheadora)

Tabla 39: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B7 (loncheados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B7	
Medidas	Frecuencia
Retirada de producto	2
LD procedimiento	2
LD biocida	1
LD desmontado de equipos	1
LD específica de choque	1
Incremento muestras verificación superficies y producto	1

LD (limpieza y desinfección)

Industria con resultados insatisfactorios en el jamón loncheado en la segunda y tercera visitas por presencia de *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.*, después de que en la primera fueran favorables. La superficie de la loncheadora en el primer muestreo presenta presencia y en el tercero ausencia de ambos parámetros.

Escasa respuesta en cuanto a medidas de control. Tuvo que retirar los lotes afectados al no poder demostrar el cumplimiento de la legislación. Realizó alguna modificación en el plan de limpieza y desinfección y actualmente está cerrada.

Los establecimientos de productos cárnicos en lonchas, necesitan unas excelentes condiciones higiénicas en la sala de loncheado. En el año 2010 el FSIS realizó un importante estudio de evaluación del riesgo entre productos cárnicos loncheados a nivel industrial y a nivel del comercio minorista, concluyendo que el 83 % de los casos de listeriosis atribuidas a estos productos se habían loncheado en establecimientos minoristas con condiciones higiénicosanitarias inferiores a los industriales (FSIS, 2010).

#### 4.1.2.22. Industria B8. Elaboradora de productos loncheados (jamón loncheado)

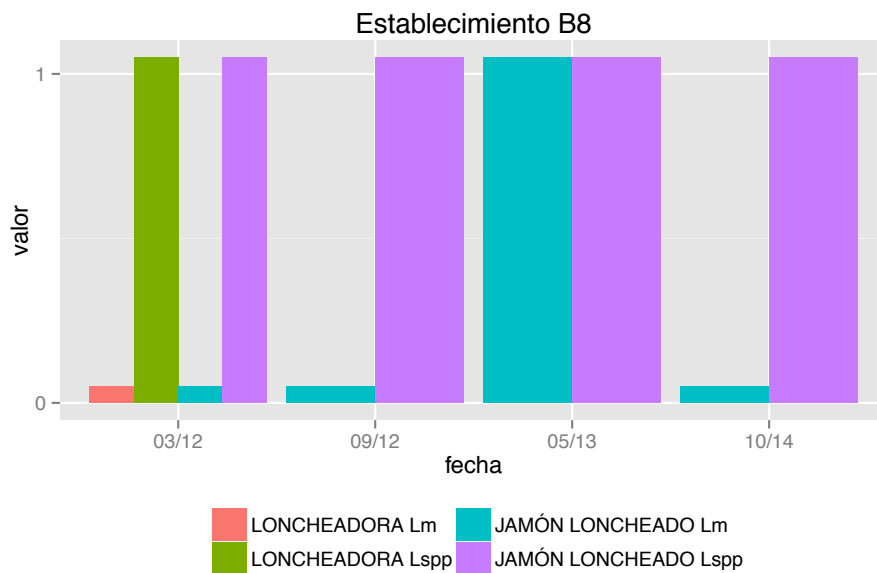


Figura 31. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria spp.* en la industria de loncheados B8 (jamón loncheado y superficie de la loncheadora)

Tabla 40: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B8 (loncheados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B8	
Medidas	Frecuencia
Investigación causas	3
LD específica de choque	3
Incremento muestras verificación superficies y producto	3
Plan específico control <i>Listeria</i>	1
LD biocida	1
LD procedimiento	1
LD rotación	1
LD secado	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1

LD (limpieza y desinfección)

Establecimiento con resultados evolucionando positivamente, pero con altibajos. En la última visita (4ª) en el jamón loncheado ya no se detectaba *L. monocytogenes*, pero sí *Listeria* spp. existiendo un riesgo latente. Los resultados de las superficies han tenido un mejor comportamiento sin detectarse *L. monocytogenes* en la loncheadora. Es imprescindible mantener el rigor en las medidas de control porque algunos brotes de listeriosis se han asociado a la contaminación persistente del ambiente de las plantas de procesado (Malley y cols., 2015).

Las medidas tomadas se han centrado en el plan de limpieza y desinfección: cambio en el procedimiento de desinfección sustituyendo el biocida, su forma de aplicación y la rotación del mismo, introducción del secado como fase final y elaborar un plan específico de limpieza y desinfección de choque para actuar frente a positivos. Las otras medidas se refieren a las técnicas de análisis, exigiendo la utilización de los métodos de referencia y a la modificación del equipo de muestreo pasando a usar esponjas. Finalmente se sistematizó la investigación de las causas.



## 4.1.2.23. Industria B9. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza)

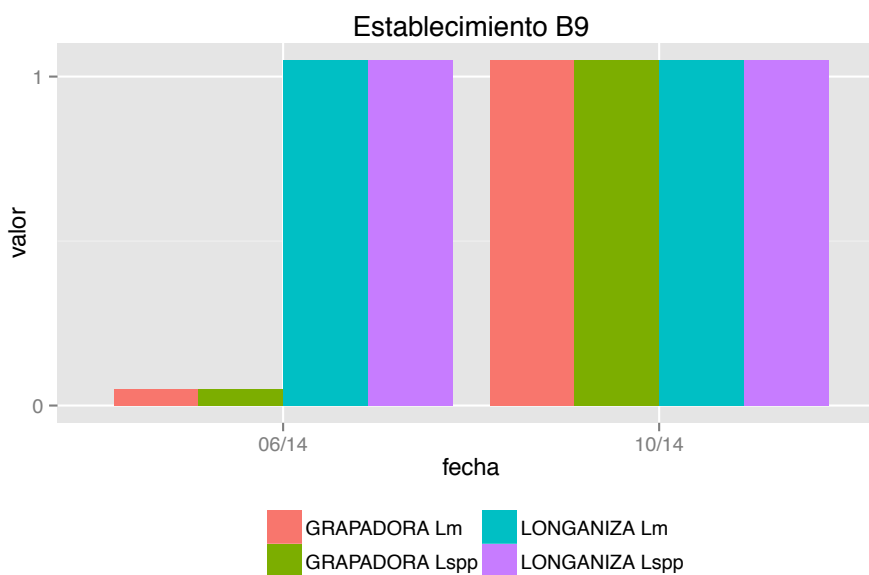


Figura 32. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados B9 (longaniza y superficie de la grapadora)

Tabla 41: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B9 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B9	
Medidas	Frecuencia
LD procedimiento	2
Estudios de vida útil	1
Investigación causas	1
LD biocida	1
LD rotación	1
LD secado	1
Incremento muestras verificación superficies y producto	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1
APPCC descripción de productos	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección)

Industria sin evolución satisfactoria en cuanto a resultados ni en la longaniza ni en la grapadora que presentan presencia de *Listeria monocytogenes* y de *Listeria* spp. En la longaniza la cantidad es menor de 10 ufc/g.

Fue imprescindible que caracterizaran los productos en cuanto a pH y  $a_w$  y realizaran estudios de vida útil para poder ofrecer garantías de cumplir la normativa y elaborar productos seguros. Fueron aplicables los modelos predictivos existentes para evaluar la capacidad de los productos cárnicos LPC de favorecer el crecimiento de *L. monocytogenes* en función del pH, la  $a_w$  y la temperatura de conservación como los publicados en 2005 y 2007 (Koutsoumanis y Sofos, 2005; Koutsoumanis y Angelidis, 2007). En cuanto a la limpieza y desinfección hubo cambios y rotación de biocidas, e introducción del secado final de los equipos. En el aspecto laboratorial se introducen los métodos de referencia UNE-EN-ISO 11290-1 y 2 en cuanto a técnicas, y la toallita prehumedecida en lo referente al muestreo. Se continuó siguiendo su trayectoria.

#### 4.1.2.24. Industria B10. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza)

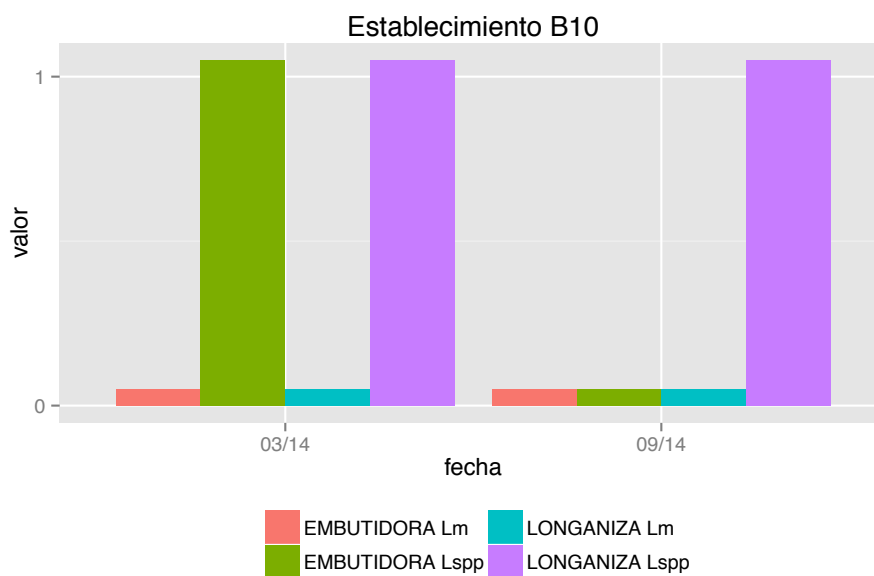


Figura 33. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados B10 (longaniza y superficie de la embutidora)

Tabla 42: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B10 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B10	
Medidas	Frecuencia
LD procedimiento	2
Estudios de vida útil	1
Estudios de vida útil reducción	1
Investigación causas	1
Aditivos concentración	1
Condensaciones y salpicaduras	1
Etiquetado	1
LD biocida	1
LD rotación	1
LD secado	1
Incremento muestras verificación superficies	1
APPCC análisis de peligros	1
APPCC descripción de productos	1
APPCC establecer (PCC)	1
APPCC revisión	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección)

Industria con evolución favorable en los resultados de la longaniza, aunque se mantiene la presencia del indicador *Listeria* spp. La superficie de la embutidora presenta buenos resultados sin detectarse *Listeria* en el último muestreo.

En cuanto a las medidas de control se caracterizaron los productos y realizaron estudios de vida útil y, a consecuencia de los mismos, se reduce el tiempo de consumo a la longaniza y se justifica el del resto. Se modificó la concentración de nitratos y nitritos añadidos revisándose el APPCC y registrando todos los cambios. Con respecto al plan de limpieza y desinfección se tomaron medidas frente a las condensaciones con el secado de zonas comprometidas, se sustituyó un biocida estableciendo su rotación y se introduce el secado final de los equipos. Realizaron cambios en el etiquetado de productos que no eran realmente LPC como la panceta semicurada a cuya etiqueta se adicionó la leyenda “debe consumirse tras tratamiento por calor”. El fabricante

tiene que decidir, dentro de sus procedimientos APPCC si el producto esta listo para ser consumido como tal o necesita algún tratamiento previo que elimine el riesgo asociado a *L. monocytogenes*. Es importante documentar la decisión y para ello puede utilizarse la guía irlandesa (FSAI, 2014a). Finalmente se sistematizó la investigación de las causas ante resultados positivos.

#### 4.1.2.25. Industria B11. Elaboradora de productos loncheados (jamón curado loncheado)

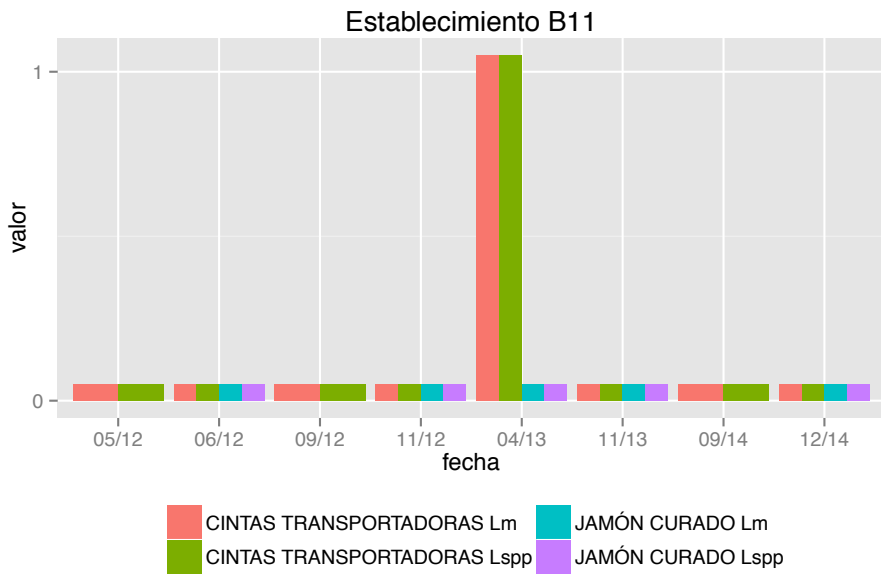


Figura 34. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de loncheados B11 (jamón curado loncheado y superficie de la cinta transportadora)

Tabla 43: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento B11 (loncheados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento B11	
Medidas	Frecuencia
Investigación causas	3
Plan específico de control de <i>Listeria</i>	3
LD específica de choque	3
PNCH revisión	1

LD (limpieza y desinfección); PNCH (programa normalizado de control de la higiene)

Establecimiento con evolución claramente favorable tanto en superficies (cintas transportadoras) como en jamón curado. Solo existe un mal resultado puntual entre varias visitas.

Atendiendo este positivo, se investigaron a fondo las causas con revisión de los registros del programa normalizado de control de la higiene (PNCH), se aplicó el plan de limpieza y desinfección de choque que está previsto para estas incidencias y se terminó de elaborar un plan específico de control de *Listeria* que recoge todos los procedimientos y medidas encaminadas a dicho control, entre las que está el muestreo ambiental y las medidas que deben emprenderse ante un resultado positivo (Tompkin, 2002).

#### 4.1.2.26. Industria C1. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

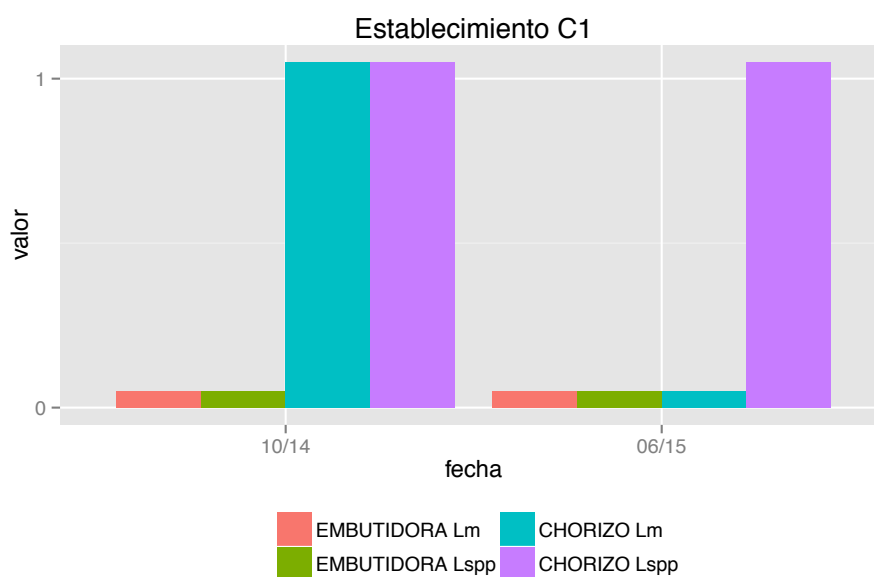


Figura 35. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados C1 (chorizo y superficie de la embutidora)

Tabla 44: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento C1 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C1	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	1
Aditivos etiquetado	1
Aditivos retirada	1
Control potabilidad agua	1
Homologación de proveedores	1
Condensaciones y salpicaduras	1

Desinfección ambientales	1
Etiquetado	1
LD biocida	1
LD procedimiento	1
LD rotación	1
LD secado	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1
APPCC calibración	1
APPCC diagramas de flujo	1
APPCC establecer (PCC)	1
APPCC justificaciones científicotécnicas	1
APPCC registros	1
APPCC verificación	1
Caracterización pH y $a_w$	1

## LD (limpieza y desinfección)

Industria con evolución favorable y mejoría evidente. En el chorizo en la última visita todavía se detecta el germen indicador *Listeria* spp. y la superficie de la embutidora arroja resultados satisfactorios en ambas visitas.

Como medidas de control se realizaron: descripción completa de los productos con parámetros fisicoquímicos y estudios de vida útil, se modificó de forma muy importante el APPCC en cuanto a calibración, diagramas de flujo, establecimiento de PCC en los tratamientos térmicos (70°C de 30 a 70 min), registros y verificación. Se potenció la homologación de proveedores que, hasta entonces, no exigía ninguna garantía microbiológica. En el plan de limpieza y desinfección se incluyeron procedimientos de limpieza para cámaras y perchas, control de condensaciones y salpicaduras, secado final de equipos y rotación de biocidas. Finalmente también se revisaron las técnicas analíticas exigiendo los métodos de referencia y las de muestreo usando toallitas prehumedecidas. En la evaluación de la aceptabilidad de los lotes o procesos de producción establecieron el plan de muestreo (n y c) tal como lo define el R. 2073/2005. No es aconsejable aplicar un plan de control menos estricto reduciendo el número de unidades (n) a analizar (Codex, 2007; FSAI, 2014b).

#### 4.1.2.27. Industria C2. Elaboradora de productos cocidos (salchichas tipo Frankfurt)

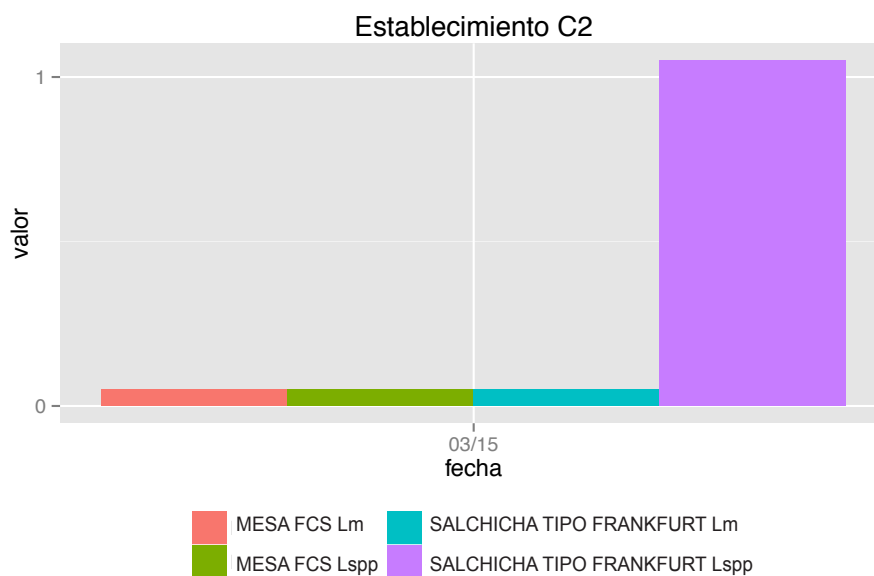


Figura 36. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de cocidos C2 (salchichas de tipo Frankfurt y superficie de la mesa de contacto)

Establecimiento con buen resultado en superficies de una mesa de contacto directo con las salchichas y presencia del parámetro indicador *Listeria* spp. en el producto señalado con el consiguiente riesgo.

A pesar de efectuarse múltiples recomendaciones e indicarle guías sobre instalaciones correctas, concretamente la de Raede (2015) no implanta medidas de control alegando cumplimiento de la normativa vigente.

#### 4.1.2.28. Industria C3. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza)

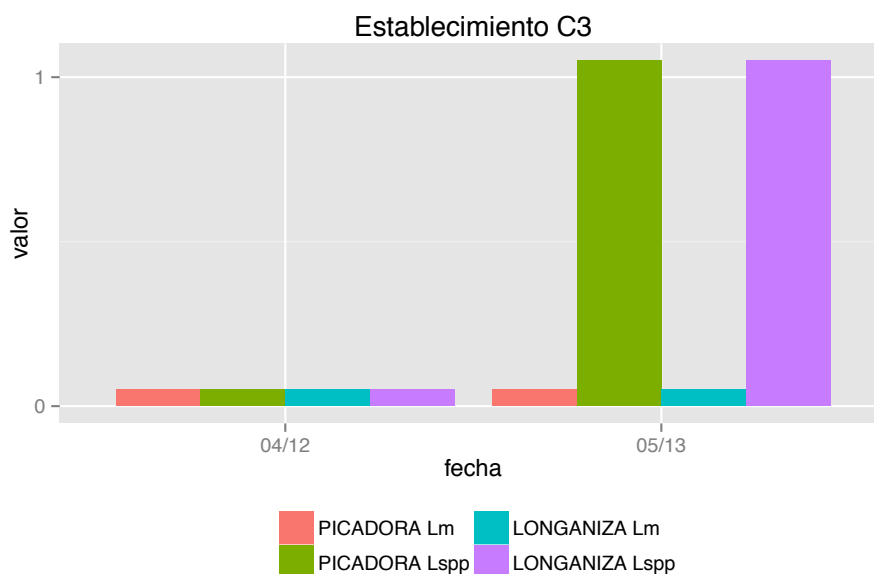


Figura 37. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados C3 (longaniza y superficie de la picadora)

Industria con buenos resultados iniciales en la superficie de la picadora y en la longaniza. En la segunda visita se detecta *Listeria* spp. tanto en la picadora como en la longaniza. Ambos resultados pueden estar perfectamente relacionados.

A pesar de efectuarse múltiples recomendaciones e indicarle concretamente las publicadas en una reciente guía del FSIS (FSIS, 2015), no implanta medidas de control alegando cumplimiento de la normativa vigente.



4.1.2.29. Industria C4. Elaboradora de productos cocidos (butifarra)

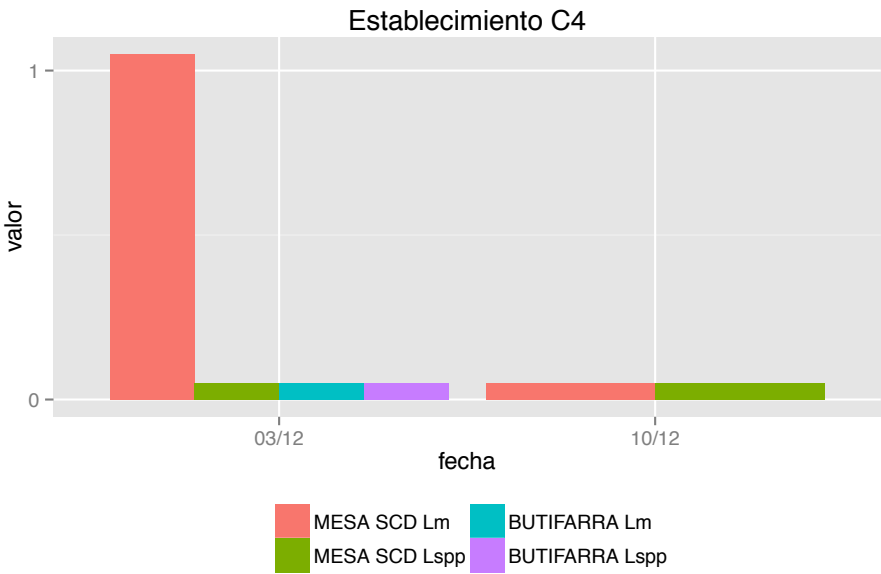


Figura 38. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp.en la industria de cocidos C4 (butifarra y superficie de la mesa de contacto)

Tabla 45: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento C4 (cocidos)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C4	
Medidas	Frecuencia
LD procedimiento	1
LD desmontado de equipos	1
LD secado	1

LD (limpieza y desinfección)

Establecimiento con buenos resultados de producto cocido (butifarra) y buena evolución de la superficie de una mesa que contacta directamente con los cocidos, ya que en la primera visita se detecta *Listeria monocytogenes* y posteriormente ya no se manifiesta *Listeria*.

El control ambiental por medio del muestreo de superficies, especialmente las que entran en contacto directo con los alimentos LPC, se considera más importante que el análisis de producto final (Luber y cols., 2011; FSIS, 2014a).

En cuanto a las medidas de control se aplicaron algunas relacionadas con el plan de limpieza y desinfección, como desmontar los equipos para su limpieza e incorporar el secado como fase final de la limpieza y desinfección. Asimismo, se implantó un control analítico del agua después de la decoloración y se suprimió la tolerancia en las muestras de *Listeria* en superficies pasando a ser “cero”.

4.1.2.30. Industria C5. Elaboradora de productos loncheados (lomo ibérico loncheado)

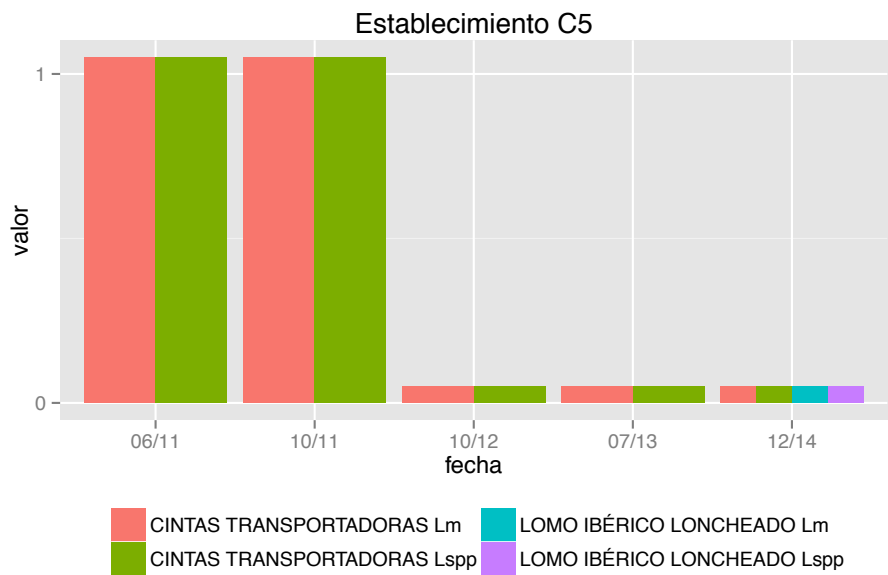


Figura 39. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de loncheados C5 (lomo ibérico loncheado y superficie de la cinta transportadora)

Tabla 46: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento C5 (loncheados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C5	
Medidas	Frecuencia
LD desmontado de equipos	3
LD procedimiento	3
Incremento muestras verificación superficies y producto	3
Homologación de proveedores	2
Desinfección ambientales	2
Exposición posletal	2
PNCH	2

Estudios de vida útil	1
Control de temperaturas	1
Formación específica	1
Condensaciones y salpicaduras	1
LD biocida	1
LD rotación	1
LD secado	1
Técnicas muestreo	1
Incremento del tiempo de curación	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección); PNCH (programa normalizado de control de la higiene)

Industria con evolución claramente favorable en los resultados de las cintas transportadoras, que son la principal superficie de contacto directo de este establecimiento. En principio, se detectaba tanto *Listeria monocytogenes* como *Listeria* spp. y en las tres últimas visitas ya no se descubre *Listeria*. Los resultados del lomo ibérico loncheado son satisfactorios.

En cuanto a las medidas de control se caracterizaron todos los productos con respecto a pH y  $a_w$  y realizaron estudios de vida útil, resultando de estas acciones un incremento del tiempo de curado. En la realización de los estudios de vida útil, mediante las herramientas previstas en el R. 2073/2005 se utilizó una combinación de ellas para realizar un abordaje adaptado al tipo de industria y de productos (Bover Cid y Garriga, 2012). Se implantó el programa normalizado de control de la higiene (PNCH). En el plan de limpieza y desinfección se sustituyeron biocidas estableciendo su rotación, se incorporó el desmontaje de equipos, se implementaron las limpiezas ambientales, se incrementó la frecuencia de muestreo en las superficies que no contactan directamente con el producto (NFC), hubo cambios en los procedimientos específicos de limpieza de las barras de los carros, se aplicaron baños higienizantes para los guantes de malla y también se aplicaron desinfecciones específicas en los desagües. Con respecto al plan de homologación de proveedores se incorporó un control de temperatura a la llegada de las piezas y exigencias microbiológicas a los establecimientos de origen. Finalmente se realizaron formaciones específicas para el personal de limpieza, los trabajadores relacionados con la aplicación, vigilancia y verificación del programa normalizado de control de la higiene (PNCH) y de los PCC y a los manipuladores en general e incrementaron las muestras de verificación de superficies y productos.

4.1.2.31. Industria C6. Elaboradora de productos cocidos (mortadela)

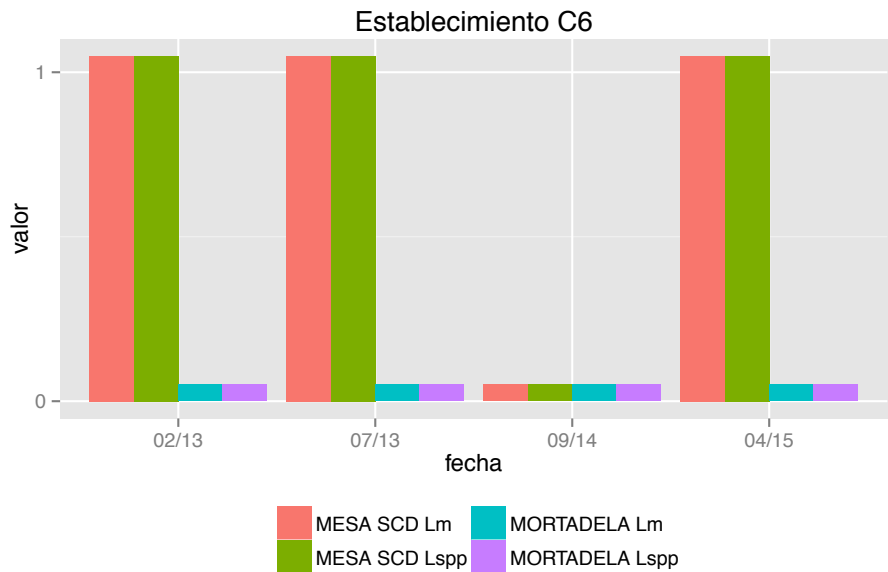


Figura 40. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de cocidos C6 (mortadela y superficie de la mesa de contacto)

Tabla 47: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento C6 (cocidos)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C6	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	2
Homologación de proveedores	2
Exposición posletal	2
Incremento muestras verificación superficies y producto	2
Caracterización pH y a <sub>w</sub>	2
Formación específica manipulador	1
Plan de mantenimiento	1
Etiquetado	1
LD biocida	1
LD procedimiento	1
Laboratorio técnicas	1

LD (limpieza y desinfección)

Establecimiento con resultados satisfactorios, en todas las visitas, con respecto al producto mortadela sin detectarse *Listeria*. En cambio, la evolución no ha sido favorable en una superficie de contacto directo –mesa- en la que continúa habiendo *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.

Por lo que respecta a las medidas de control se caracterizaron los productos con respecto a pH y  $a_w$  realizándose también estudios de vida útil y suponiendo un incremento del tiempo de curado para los productos crudos curados que elaboran. En los cocidos se refuerzan las medidas higiénicas en la zona de exposición posletal y se acorta el tiempo entre el tratamiento térmico y el envasado. Según el FDA/USDA los productos cárnicos cocidos manipulados después del tratamiento térmico presentan el mayor riesgo relativo para contraer la listeriosis (DHHS/CFSAN/FSIS/CDC, 2003). Se revisó la homologación de proveedores exigiendo que se cumplan las especificaciones técnicas del producto mediante presentación de análisis. Se revisó el plan de mantenimiento en cuanto a su vigilancia y rapidez de respuesta. Las técnicas de laboratorio serán las de referencia, en vez de las que utilizaban y en el plan de limpieza y desinfección se sustituyó un biocida estableciendo su rotación.

#### 4.1.2.32. Industria C7. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

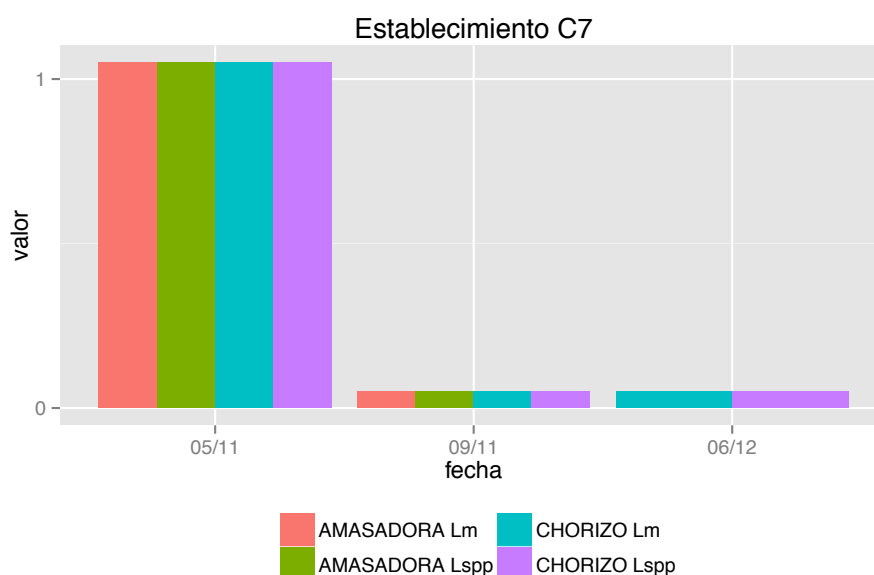


Figura 41. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados C7 (chorizo y superficie de la amasadora)

Tabla 48: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento C7 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C7	
Medidas	Frecuencia
Homologación de proveedores	2
Estudios de vida útil	1
Aditivos etiquetado	1
Aditivos retirada	1
Control de temperaturas cámaras	1
MCA	1
Condensaciones y salpicaduras	1
Etiquetado	1
LD biocida	1
LD desmontado de equipos	1
LD procedimiento	1
LD rotación	1
LD secado	1
Incremento muestras verificación producto	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1
APPCC descripción de productos	1
Caracterización pH y $a_w$	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

Industria que mejora claramente desde la primera visita tanto en la superficie de la amasadora como con respecto al chorizo. Se detectó en el primer muestreo *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. y posteriormente ya todos los resultados son favorables.

En lo referente a las medidas de control en cuanto a aditivos, se retiraron los polifosfatos (reguladores del pH), con el objeto de favorecer una mayor bajada del mismo y conseguir mayor seguridad, se incluyó en la etiqueta el ácido carmínico E-120 (rojo cochinilla) que se adicionaba sin figurar y hubo que indicar en la longaniza oreada que “debe tratarse completamente por calor antes de su consumo” porque no se considera un producto LPC. En la homologación de proveedores se establece el requisito de exigir al menos 3 análisis negativos de *Listeria* al año. Se caracterizaron los productos con respecto a pH y  $a_w$  realizando estudios de vida útil y teniendo como resultado

el incremento del periodo de curación de chorizos y longanizas en 7 días. En cuanto al plan de limpieza y desinfección se realiza una limpieza específica de evaporadores y condensadores, se limita el uso de mangueras para evitar salpicaduras, se incorpora el secado final y la rotación de biocidas. Sobre las técnicas de análisis se exigieron los métodos de referencia UNE-EN-ISO 11290-1 y 2 y se modificó el muestreo usando toallitas prehumedecidas. También se incrementó el número de muestras de verificación de superficies y productos. Aunque no hay ningún protocolo estándar para el muestreo ambiental desde el laboratorio de referencia de *L. monocytogenes* en la UE (EURL Lm) se elaboraron directrices para el muestreo de áreas y equipamientos para detectar *L. monocytogenes* (ANSES y EURL Lm, 2012) y, por otra parte, también la AECOSAN acaba de publicar un documento técnico sobre el mismo aspecto (AECOSAN, 2015).

#### 4.1.2.33. Industria C8. Elaboradora de productos picados crudos curados (longaniza)

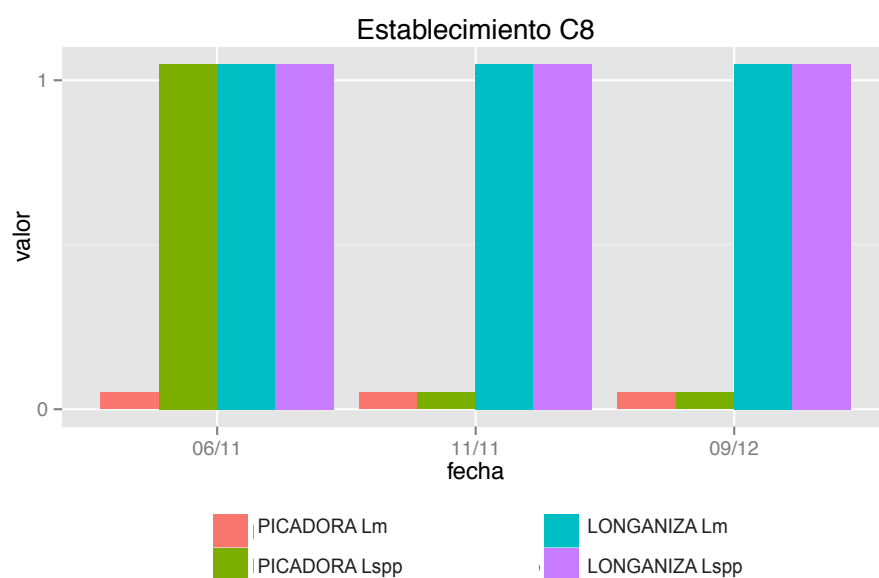


Figura 42. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados C8 (longaniza y superficie de la picadora)

Tabla 49: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento C8 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C8	
Medidas	Frecuencia
Control de temperaturas cámaras	2
LD procedimiento	2
Estudios de vida útil	1
Aditivos concentración	1
Aditivos retirada	1
Homologación de proveedores	1
MCA	1
LD biocida	1
Incremento muestras verificación superficies	1
Laboratorio técnicas análisis muestreo	1

LD (limpieza y desinfección); MCA (materiales en contacto con alimentos)

El establecimiento manifiesta mejora en los resultados de superficies con presencia de *Listeria* spp. en primera visita, que luego ya no se detectan. En cambio, en la longaniza sigue aislándose *L. monocytogenes*, siempre menor de 10 ufc/g, y también *Listeria* spp., sin experimentar cambios favorables.

Las medidas de control han consistido, en cuanto a aditivos, en cambios de la concentración del E-450 difosfato e incluir en el etiquetado el ácido carmínico E-120 (rojo cochinilla). Además se mejoró el control del frío, introduciendo un control electrónico de la temperatura de las cámaras. Se implantaron las técnicas de laboratorio de referencia frente a *Listeria* y el método de muestreo, usando esponjas prehumedecidas. También se incrementó el número de muestras de superficies y producto. En la homologación de proveedores se estableció el control de la temperatura de llegada de las carnes y, de no ser la estipulada, su rechazo. Utilización de un nuevo biocida junto a su procedimiento de aplicación. Los biocidas de amplio espectro son poco efectivos frente a *L. monocytogenes*. Por ello se están estudiando productos más específicos como son los aceites esenciales de plantas (De Ancos y cols., 2006) y el ácido hipocloroso (Calderón, 2010) o incluyendo bacteriocinas (Nahuelquín, 2008). Finalmente se realizaron estudios de vida útil.



## 4.1.2.34. Industria C9. Elaboradora de productos picados crudos curados (salchichón)

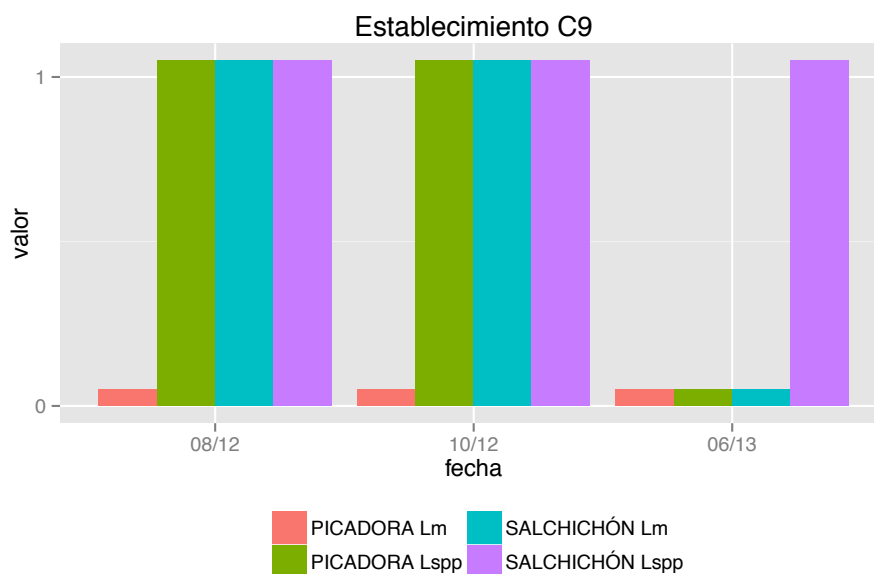


Figura 43. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados C9 (salchichón y superficie de la picadora)

Tabla 50: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento C9 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C9	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	1
Aditivos etiquetado	1
Control potabilidad agua	1
Control de temperaturas cámaras	1
Homologación de proveedores	1
Condensaciones y salpicaduras	1
Desinfección ambientales	1
LD superficies NFC	1
Exposición posletal	1
Incremento muestras verificación producto	1
Laboratorio técnicas análisis	1
APPCC justificaciones científicotécnicas	1
APPCC límites críticos	1
APPCC registros	1
Caracterización pH y $a_w$	1

LD (limpieza y desinfección); NFC (superficie que no está en contacto directo con el alimento)

Este establecimiento, en la tercera visita, consigue eliminar la presencia de *Listeria monocytogenes* que siempre fue menor de 100 ufc/g en el salchichón, a pesar de que sigue detectándose el indicador *Listeria* spp. En las superficies, la evolución también es positiva hasta conseguir que en esta último muestreo no se detecte *Listeria*. El objeto del muestreo ambiental de superficies es la detección y eliminación de cepas persistentes o, en caso de que la eliminación no sea posible, implementar acciones correctoras en el marco del APPCC para evitar la contaminación de los alimentos (ANSES y EURL Lm, 2012).

Sobre las medidas de control se caracterizaron los productos en cuanto a pH y  $a_w$  y se realizaron estudios de vida útil. En lo referente al plan de limpieza y desinfección, se comenzaron a aplicar limpiezas ambientales usando microbiocidas, se suprimieron las mangueras para evitar salpicaduras, se incrementó la frecuencia del muestreo de las superficies que no son de contacto directo (NFC) y se estableció un procedimiento anticondensación basado en un operativo consistente en varios secados de los techos de riesgo durante la jornada de trabajo. Se estableció un sistema automático de control de temperaturas y también de control de la potabilidad del agua después de la decoloración. Se modificó el límite crítico del PCC “tiempo de curado mínimo” incrementándolo. Se exigieron analíticas favorables en cuanto a *Listeria* a los proveedores de carne fresca de porcino y se incrementó el número de muestras de verificación tanto en superficies como en producto (5 de cada tipo mensuales).

#### 4.1.2.35. Industria C10. Elaboradora de productos picados crudos curados (chorizo)

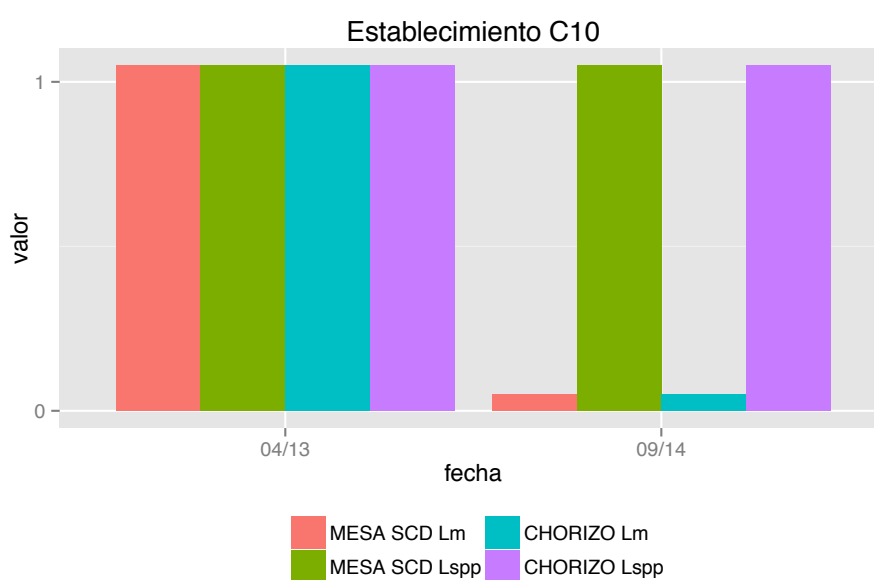


Figura 44. Evolución de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en la industria de picados crudos curados C10 (chorizo y superficie de la mesa de contacto)

Tabla 51: Medidas de control de *Listeria* para el establecimiento C10 (picados crudos curados)

Medidas de control de <i>Listeria</i> para el establecimiento C10	
Medidas	Frecuencia
Estudios de vida útil	2
Caracterización pH y $a_w$	2
Control de temperaturas cámaras	1
Homologación de proveedores	1
MCA	1
Desinfección ambientales	1
LD procedimiento	1
LD rotación	1
LD secado	1
Incremento muestras verificación superficies	1
Laboratorio técnicas análisis	1
Laboratorio técnicas muestreo	1

MCA (materiales en contacto con alimentos); LD (limpieza y desinfección)

Evolución positiva en este establecimiento tanto en el chorizo como en la mesa de contacto directo, aunque manteniéndose la detección de *Listeria* spp. y por tanto el riesgo. En la primera visita la superficie y el producto tuvieron presencia de *Listeria monocytogenes*, si bien en el producto el recuento fue menor de 10 ufc/g.

Sabemos por diversos estudios que en muchas plantas procesadoras no es posible su completa eliminación (Timothe y cols., 2004), por lo cual deben extremarse las medidas de control tanto a nivel industrial y comercial, como en el hogar.

Con respecto a las medidas de control se realizaron estudios de vida útil y los datos obtenidos de pH y  $a_w$  se incluyeron en la descripción de los productos del APPCC. Se estableció para los proveedores control de temperatura de las carnes de porcino durante la recepción y muestreos favorables de materia prima en cuanto a *Listeria* dos veces al año. En el plan de limpieza y desinfección se introdujeron limpiezas ambientales semanales con un nuevo biocida incluyendo también limpiezas trimestrales de conductos, filtros y rejillas de aire acondicionado, secado de equipos tras la limpieza usando aire caliente y previsión de rotación bimensual de dos biocidas,

además de disponer de un tercero más eficaz para limpiezas específicas ante positivos. En el laboratorio se pasó a usar un método analítico que incluye preincubación y en el muestreo al uso de esponjas, teniendo en cuenta los resultados obtenidos por Gómez y cols. (2012a, 2012b) para este equipo de toma de muestras en las superficies de polietileno. Las verificaciones de superficies se incrementaron pasando de quincenales a semanales.

## 4.2. Resultados por grupos de productos cárnicos

Después de la presentación industria a industria, ahora vamos a considerar los resultados obtenidos por grupos de productos. Cada representación gráfica constará de 3 gráficos de sectores que indican:

1. Porcentaje de productos cárnicos LPC del grupo en cuestión con presencia de *L. monocytogenes*/25 g sobre el total.
2. Porcentaje de productos cárnicos LPC del grupo en cuestión con presencia de *Listeria* spp. en 25 g sobre el total.
3. Porcentaje de los positivos a *L. monocytogenes* en el grupo de productos cárnicos LPC que superan las 100 ufc/g. Sabemos que este criterio es básico porque supone el dintel entre el cumplimiento o no de la normativa de la UE en cuanto a criterios microbiológicos (R. 2073/2005).

Además dos nuevos gráficos nos indicarán como se han comportado las superficies analizadas:

1. Porcentaje de superficies con presencia de *L. monocytogenes* en las extensiones muestreadas en ese grupo.
2. Porcentaje de superficies con presencia de *Listeria* spp. en las áreas muestreadas en ese grupo.

Asimismo se analizarán individualmente algunos productos característicos de este grupo y también algunas superficies de contacto directo y estrecha relación con el mismo. La sistemática será la misma, 3 gráficos para los productos individuales y 2 para las superficies.

Continuaremos con una tabla y un gráfico que detallarán las medidas de control tomadas en el grupo. Para hacerlas más manejables las hemos dividido en 8 tipos de medidas de control según el objetivo que persiguen y que son:

- Implementación de nuevos planes y previsión de actuaciones
- Cambios estructurales y de equipos
- Prerrequisitos distintos de limpieza y desinfección
- Limpieza y desinfección
- Laboratorios
- Cambios en los procedimientos de fabricación
- Programa normalizado de control de la higiene (PNCH)
- Sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC)

Este esquema será válido para cada uno de los 5 grupos.

#### 4.2.1. Grupo de productos picados crudos curados

Se representan los porcentajes de detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria spp.* en los productos, superficies y productos más característicos.

##### 4.2.1.1. *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.* en productos y superficies

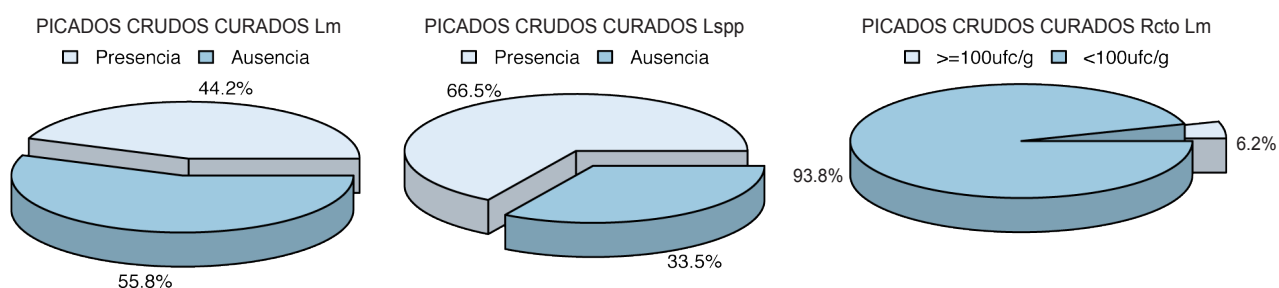


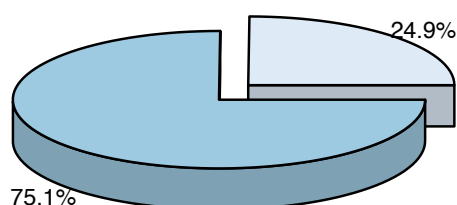
Figura 45. Resultados en los picados crudos curados.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria spp.* y recuento de *L. monocytogenes*

Los resultados obtenidos en el conjunto de los productos cárnicos picados crudos curados, son realmente importantes, encontrando *L. monocytogenes* en el 44,2 % y *Listeria spp.* en el 66,5 %. No obstante, el porcentaje de productos que incumple la normativa (>100 ufc/g) se reduce a

un 6,2 %. Claramente debe convivirse con este riesgo, controlarlo al máximo y, de este modo, conseguir reducirlo a niveles aceptables. Buscaremos las causas en el análisis de los productos más característicos.

Superficies de Industrias de Picados Crudos Curados Lm  
 □ Presencia ■ Ausencia



Superficies de Industrias de Picados Crudos Curados Lspp  
 □ Presencia ■ Ausencia

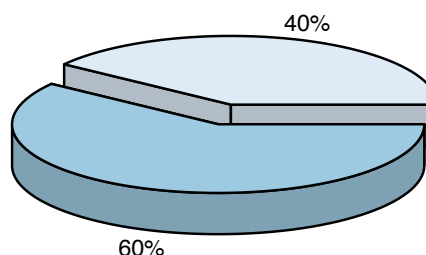
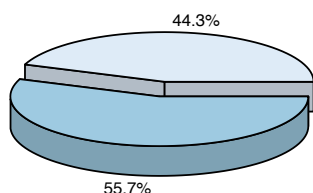


Figura 46. Resultados en las superficies. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp.

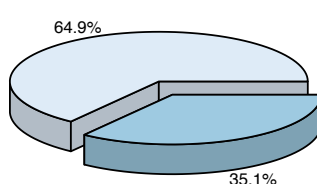
Los resultados con un 24,9 % de superficies positivas para *L. monocytogenes* y un 40 % para *Listeria* spp. indican que la contaminación cruzada a través de las superficies de contacto directo supone una fuente principal de la llegada de listeria a estos productos. Analizaremos las causas en los resultados de las superficies más características de estas industrias.

#### 4.2.1.1.1. Resultados del conjunto de los chorizos

CHORIZO Lm  
 □ Presencia ■ Ausencia



CHORIZO Lspp  
 □ Presencia ■ Ausencia



CHORIZO Rcto Lm  
 □  $\geq 100$ ufc/g ■  $< 100$ ufc/g

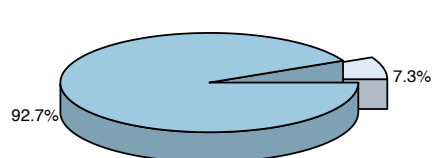


Figura 47. Resultados en los chorizos.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Se trata de uno de los productos picados crudos curados más característicos de las industrias cárnicas aragonesas. Los resultados reflejan contaminaciones importantes de *Listeria* spp. (64,9 %) y de *L. monocytogenes* (44,3 %), si bien el porcentaje de los que superaban el criterio de seguridad de 100 ufc/g ha sido relativamente bajo (7,3 %) y hay que decir, que este resultado está sesgado por 2 industrias que aportaron malos resultados en chorizo. También debe observarse que la gran mayoría

de las industrias, a pesar de estos resultados microbiológicos, tienen en sus muestras de chorizo unos valores de pH próximos a 5 y unas  $a_w < 0,90$  que los hacen seguros, ajustándose a la normativa UE.

Se ha conseguido que la práctica totalidad de las industrias describa de forma adecuada sus productos y que siempre estén presentes los valores medios de pH y  $a_w$  por ser factores de seguridad. La caracterización del producto en relación con los factores intrínsecos y extrínsecos que afectan al comportamiento de los microorganismos, más allá de las especificaciones técnicas y de los procesos productivos, es un aspecto clave y esencial para caracterizar el riesgo asociado a un alimento LPC y así lo establece la normativa vigente (R. 2073/2005; anexo II).

#### 4.2.1.1.2. Resultados del conjunto de las longanizas

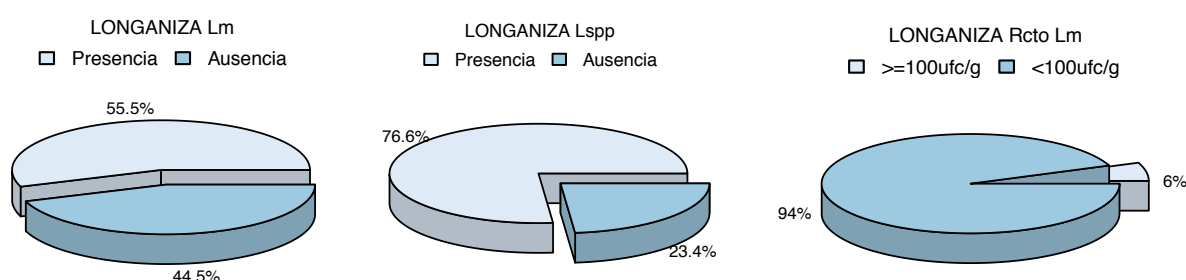


Figura 48. Resultados en las longaniza. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Producto picado crudo curado más típico de Aragón y muy apreciado en el exterior. Los resultados detectaron valores superiores incluso a los del chorizo: *Listeria monocytogenes* (55,5 %), *Listeria* spp. (76,6 %) y algunas muestras que incumplían la normativa superando las 100 ufc/g (6 %). La longaniza y el chorizo son dos productos similares que en muchos casos comparten la misma masa, diferenciándose posteriormente en uno de los dos embutidos mediante especias y aditivos. La gran mayoría presenta valores de pH y  $a_w$  que le confieren seguridad, sin embargo les resulta muy complicado a las industrias reducir las presencias de contaminación detectadas.

Las herramientas para conseguirlo son principalmente los procesos de fermentación adecuada y el curado suficiente. En cuanto a la fermentación existe una clasificación en la que se califica de poco acidificante la que reduce el nivel de *L. monocytogenes* en  $<1$  log y en acidificante la que lo reduce en  $>1$  log otorgándole al producto características bacteriostáticas y disminuyendo el riesgo (Aymerich y cols., 2014).

#### 4.2.1.1.3. Resultados del conjunto de los salchichones

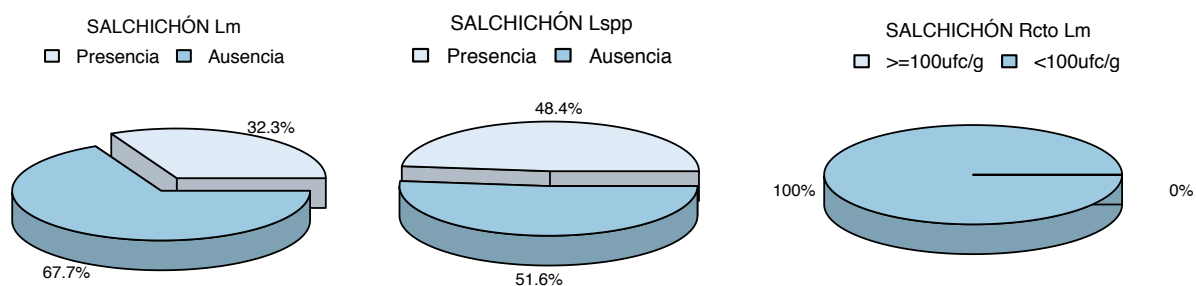


Figura 49. Resultados en los salchichones. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Embutido de curación larga (>30 días) y notable calidad por las materias primas empleadas. Los resultados han sido *Listeria monocytogenes* (32,3 %), *Listeria* spp. (48,4 %) y no ha habido ninguna muestra de salchichón que superase las 100 ufc/g. Las presencias detectadas son importantes y la seguridad del producto depende de las medidas de control establecidas.

A partir de unos tiempos de curación superiores a la mayoría de los embutidos de su grupo, se consigue una mayor reducción de la  $a_w$  y se incrementa su seguridad. También contribuye a ello la mejor materia prima de partida y las concentraciones y tipos de aditivos que la normativa le permite. Para los crudos curados de larga curación es posible adicionar solo nitratos (250 ppm) a diferencia del chorizo o la longaniza (150 ppm nitratos y 150 ppm nitritos). Los nitratos se reducen a nitritos aportando cierto poder bactericida que les confiere seguridad durante más tiempo, pero que no es inhibitoria. Como referencia a tener en cuenta, podemos considerar que la mínima concentración inhibitoria (MIC) para la forma no disociada de los nitratos se considera 350 ppm (Mejlholm y Dalgaard, 2009; Mejlholm y cols., 2010).

#### 4.2.1.2. Resultados del conjunto de superficies

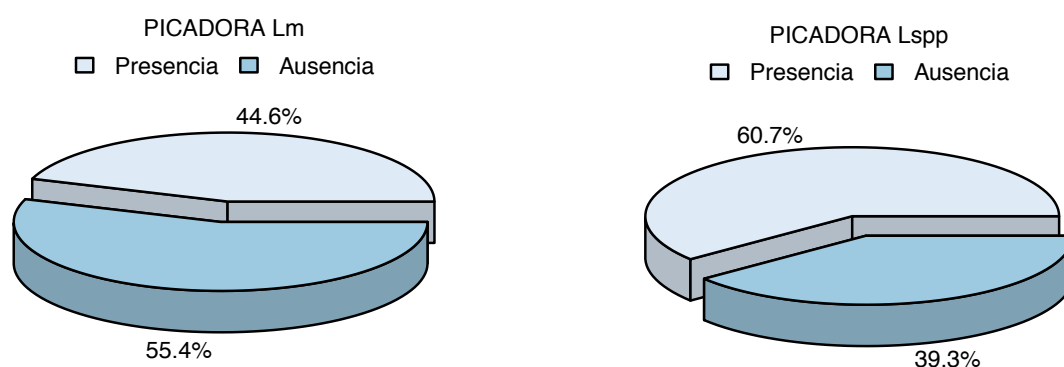


Figura 50. Resultados en las superficies de las picadoras. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp.



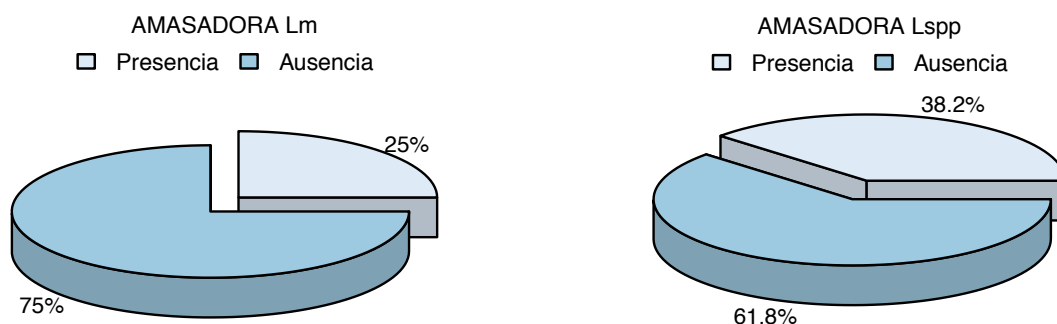


Figura 51. Resultados en las superficies de las amasadoras. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp.

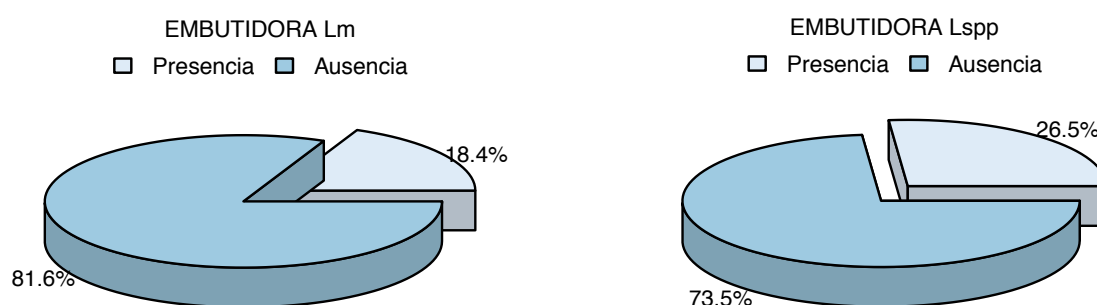


Figura 52. Resultados en las superficies de las embutidoras. Detección de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.

En las tres superficies de contacto directo más habituales en las industrias de productos picados crudos curados como son la picadora, la amasadora y la embutidora encontramos porcentajes importantes de *Listeria monocytogenes* en mayor proporción en la picadora (44,6%), seguido en un orden lógico de avance del proceso hacia fases de más higiene, por la amasadora (25%) y por la embutidora (18,4%). Los valores hallados están en la línea de una reciente revisión de Meloni (2015) que señala una dispersión similar (17-50%). La presencia de *Listeria* spp. en las mismas superficies siempre fue mayor (60,7, 38,2 y 18,4% respectivamente) confirmándonos que, en un porcentaje altísimo de los casos, se encuentra *L. monocytogenes* acompañada de otras especies y compartiendo el nicho. Además, del total de las especies distintas de *L. monocytogenes* identificadas, el 81% han sido *Listeria innocua*. Esta especie, que nos sirve de indicador, puede también desempeñar un importante papel en la transmisión de resistencias antimicrobianas a *L. monocytogenes* como demuestra un reciente estudio (Gomez y cols., 2014).

Los resultados concuerdan con los hallados en los productos y con la conclusión de que los elaboradores de este tipo de productos LPC tienen que convivir y, sobre todo, “controlar la listeria” para mantenerla a niveles aceptables y reglamentarios (Gómez y cols., 2015). A pesar de

que la limpieza y desinfección de estos equipos se realice correctamente, las carnes frescas aportan *Listeria* y el equipo actúa como fuente (Thévenot y cols., 2006; Lopez y cols., 2008).

#### 4.2.1.3. Medidas de control puestas en práctica en este grupo

Tabla 52. Medidas de control tomadas en el conjunto de las industrias de productos picados crudos curados y su proporción

VARIABLES	FRECUENCIAS	PROPORCIÓN	PORCENTAJE
LD secado	11	0,043	4,26
Caracterización pH y $a_w$	20	0,078	7,75
Estudios de vida útil	24	0,093	9,3
Homologación de proveedores	12	0,047	4,65
LD desmontado de equipos	2	0,008	0,78
LD procedimiento	19	0,074	7,36
LD rotación	9	0,035	3,49
Condensaciones y salpicaduras	4	0,016	1,55
Etiquetado	10	0,039	3,88
Desinfección ambientales	4	0,016	1,55
MCA	14	0,054	5,43
Laboratorio técnicas muestreo	7	0,027	2,71
Laboratorio técnicas análisis	9	0,035	3,49
APPCC descripción de productos	8	0,031	3,1
Aditivos concentración	4	0,016	1,55
Incremento muestras verificación superficies	5	0,019	1,94
Aditivos etiquetado	6	0,023	2,33
APPCC justificaciones científicotécnicas	3	0,012	1,16
Aditivos retirada	3	0,012	1,16
Incremento muestras verificación producto	4	0,016	1,55
Medidas de control frente a positivos	1	0,004	0,39
Control de temperaturas cámaras	5	0,019	1,94

LD superficies NFC	2	0,008	0,78
Exposición posletal	1	0,004	0,39
APPCC limites criticos	1	0,004	0,39
Control potabilidad agua	2	0,008	0,78
APPCC registros	2	0,008	0,78
Incremento muestras verificación superficies y producto	7	0,027	2,71
Plan mantenimiento	2	0,008	0,78
Incremento del tiempo de curación	4	0,016	1,55
Análisis de superficies	2	0,008	0,78
APPCC verificación	2	0,008	0,78
Análisis de tendencias	3	0,012	1,16
APPCC establecer (PCC)	1	0,004	0,39
APPCC diagramas de flujo	1	0,004	0,39
Investigación causas	4	0,016	1,55
LD específica de choque	1	0,004	0,39
APPCC revisión	8	0,031	3,1
APPCC establecer PCC	1	0,004	0,39
Procedimiento pre y operativo revisión	2	0,008	0,78
Retirada de producto	4	0,016	1,55
APPCC análisis de riesgo	1	0,004	0,39
Laboratorio acreditación	1	0,004	0,39
Incremento muestras verificación materias primas	1	0,004	0,39
Actuación ante positivos superficies y productos	4	0,016	1,55
Externalizacion servicios loncheado	1	0,004	0,39
Incremento periodos curación mínimos	1	0,004	0,39
Modificación RGSEAA	3	0,012	1,16
Destrucción de producto	1	0,004	0,39
LD aire acondicionado	2	0,008	0,78
Cambios procesos elaboración orden	1	0,004	0,39

Sustitución e incorporación de equipos secadero	1	0,004	0,39
Favorecer fermentación cultivo acidolácticos	1	0,004	0,39
Plan de mantenimiento de equipos	1	0,004	0,39
Homologación de proveedores (cambio proveedores)	1	0,004	0,39
Estudios de vida útil (reducción)	1	0,004	0,39
APPCC análisis de peligros	1	0,004	0,39
APPCC calibración	1	0,004	0,39

LD (limpieza y desinfección); MCA (materiales en contacto con alimentos);

NFC (superficie que no está en contacto directo con el alimento);

RGSEAA (registro general sanitario de empresas alimentarias y alimentos).

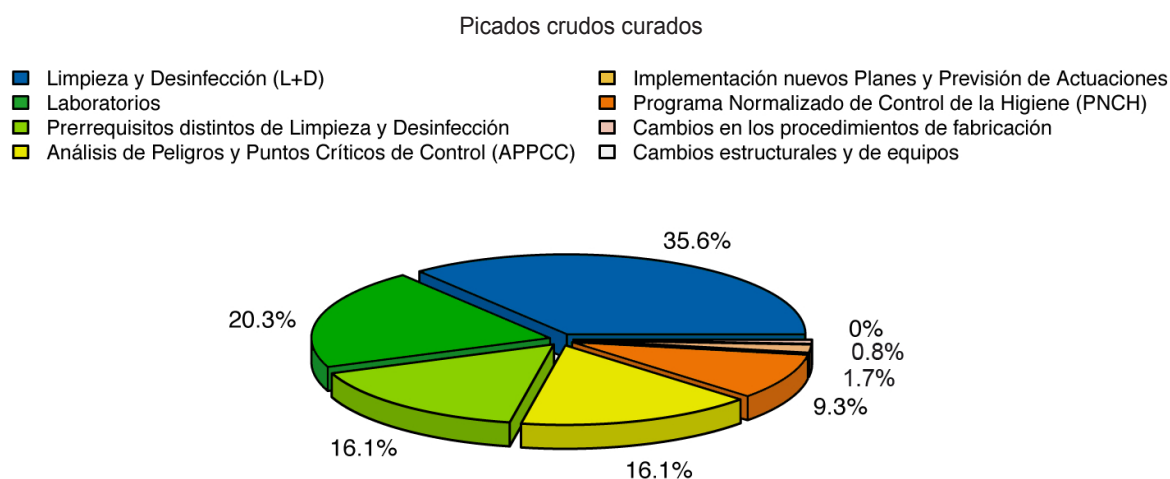


Figura 53. Grupo picados crudos curados. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas

Considerando las medidas de control más frecuentemente tomadas, entre las que destacan las que afectan al plan de limpieza y desinfección (35,6 %) y las verificaciones laborales (20 %), destacaríamos que en tercer lugar aparecen los prerrequisitos distintos a limpieza y desinfección entre los que está la homologación de proveedores y que este requisito previo debe seguir potenciándose, por tratarse de una de las vías de entrada en las fábricas. También en el APPCC y, aunque sea de difícil aplicación, el control de la producción de lactobacilos puede resultar muy eficaz, unido a los tiempos de curación. Darles a la fermentación y al curado categoría de PCC es situarlos al máximo nivel de control y, sin duda, muy positivo.

Ha tenido escasa representación el programa normalizado de control de la higiene (PNCH), siendo la principal herramienta de control de la contaminación cruzada, que es la vía principal de transferencia de *Listeria* a los alimentos dentro de las plantas. Deben mejorarse los preoperativos e introducir más operativos con limpiezas intermedias. Finalmente explorar las reformulaciones y los procedimientos de fabricación también debería estar más representado. Resumiendo, la formulación del producto y los procesos posteriores de fermentación y curado tienen que aportar las garantías, por supuesto, sin abandonar la premisa de partir del nivel de contaminación más bajo posible.

Por otra parte, puede afirmarse que a pesar de todas las medidas apuntadas no parece factible eliminar el riesgo completamente. Así, partiendo de ese riesgo real, el objetivo del muestreo ambiental es la detección y eliminación de cepas persistentes o, en caso de que la eliminación no sea posible, implementar acciones correctoras en el marco del APPCC para evitar la contaminación de los alimentos (ANSES y EURL Lm, 2012).

#### 4.2.2. Grupo de productos cocidos

Se representan los porcentajes de detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en los productos, superficies y productos más característicos.

##### 4.2.2.1. *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. en productos y superficies

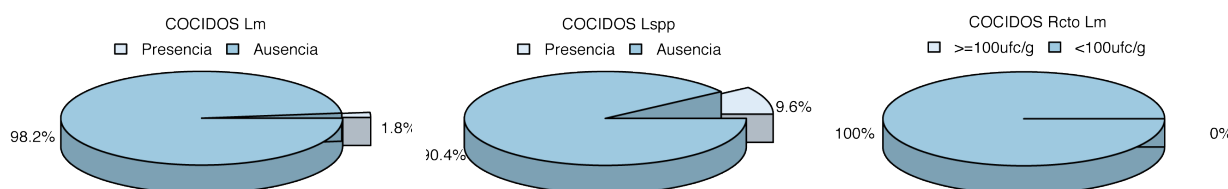


Figura 54. Resultados en los cocidos. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Los productos cárnicos cocidos han presentado *L. monocytogenes* en un 1,8% de los resultados y *Listeria* spp. en un 9,6%. Ningún producto superó el límite legal (100 ufc/g). Son valores reducidos, pero es posible mejorarlos y disminuir todavía más el riesgo.

Lo analizaremos en sus productos más característicos.

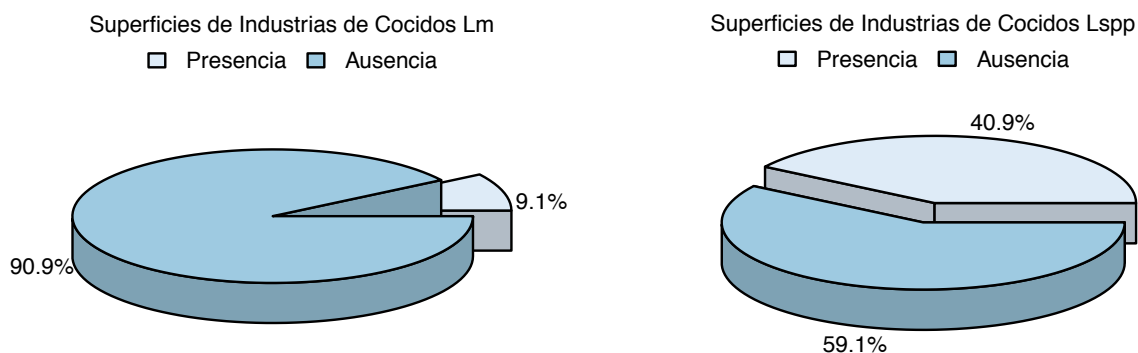


Figura 55. Resultados en las superficies. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp.

Los resultados en las superficies de las industrias de productos cárnicos cocidos presentan un riesgo nada despreciable, con un 9,1 % en cuanto a *L. monocytogenes* y un elevado 40,9 % en *Listeria* spp. Sin duda, esta contaminación en el ambiente industrial es la fuente de listeria.

Lo analizaremos en los distintos productos.

#### 4.2.2.1.1. Resultados del conjunto de las butifarras

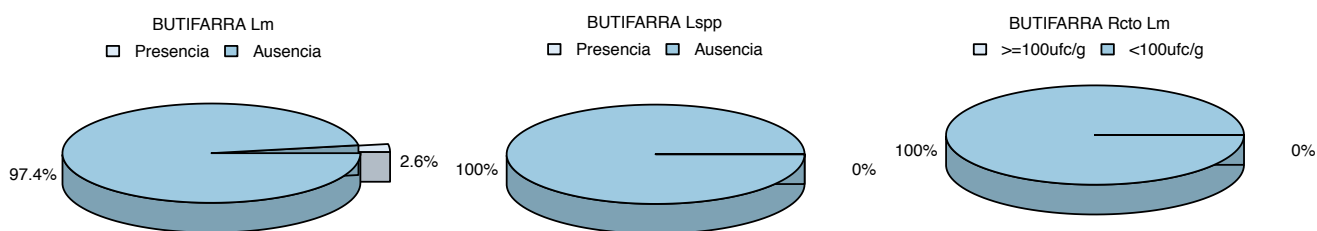


Figura 56. Resultados en las butifarras. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

La butifarra como representante muy característico de los productos cocidos LPC aragoneses es un embutido muy seguro. Se detecta *Listeria monocytogenes* en el 2,6 % sin superar el límite (100 ufc/g) en ningún caso y sin presencia de *Listeria* spp. Es uno de los pocos productos en que se detectó *L. monocytogenes* sin que aparecieran otras especies de *Listeria*. De todos modos no debe tolerarse ninguna presencia, debido a que sus condiciones fisicoquímicas no suponen ninguna barrera al crecimiento de *Listeria* ( $a_w$  media 0,98 y pH superior a 6) y a que, después del tratamiento térmico, es muy susceptible a la contaminación.

Los fundamentos de su control son que el termoproceso sea suficiente y con categoría de PCC. Se estima que los valores de pasteurización para reducir 6 unidades logarítmicas la carga del patógeno se lograrían aplicando 70 °C durante 2 minutos en el centro del producto, o bien una

letalidad equivalente (ECFF Recommendations, 2006; Gaze, 2006). La fase de exposición posletal previa al envasado deberá ser mínima o inexistente y con extraordinarias medidas de higiene. Otra vía de seguridad es aplicar un tratamiento posletal después del envasado para eliminar una potencial contaminación superficial en la fase de exposición (p. ej. escaldado 90 °C/2 min).

#### 4.2.2.1.2. Resultados del conjunto de fiambre de jamón de york y jamón de york

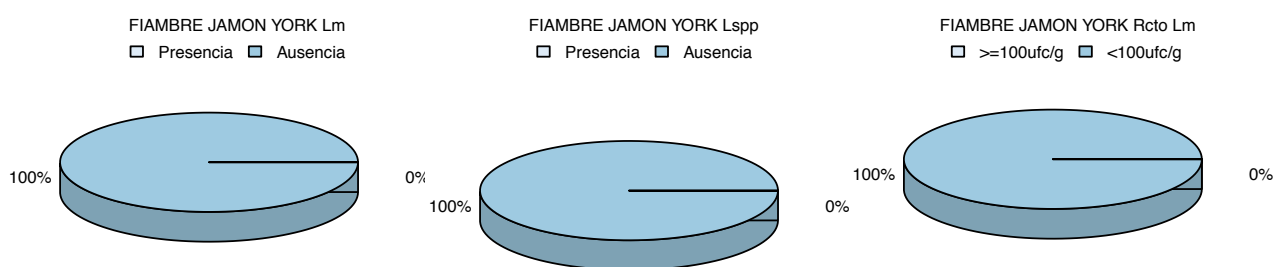


Figura 57. Resultados en los fiambres de jamón de york. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

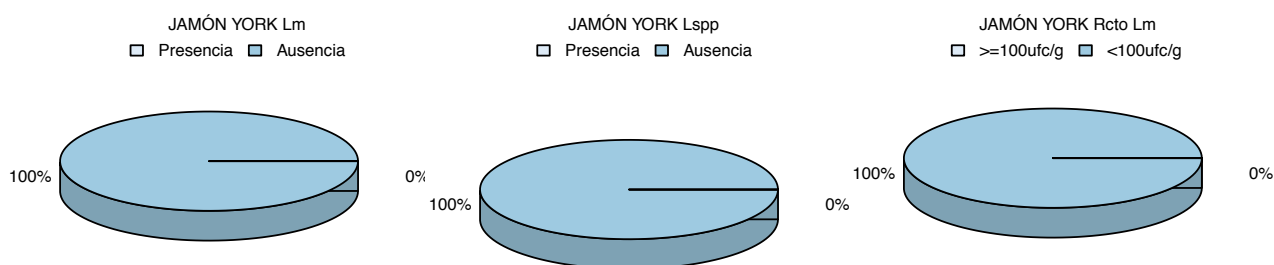


Figura 58. Resultados en el jamón de york. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Se trata de productos que se someten a un tratamiento térmico suficiente para eliminar *Listeria*, que esta controlado como PCC y que no deben presentarla. Hay que hacer la salvedad de que se utilizan dos sistemas de elaboración: en uno la posibilidad de recontaminación después del tratamiento térmico no existe, porque se trata ya envasado y en el otro, si que existe exposición posletal previa al envasado. En este último caso habrá que extremar las medidas higiénicas para que no se contaminen. Sabemos, tanto por los resultados de nuestro trabajo como por otras recientes publicaciones (Ortiz y cols., 2014; Gómez y cols., 2015; Meloni, 2015) que la contaminación a partir de superficies en contacto directo con el alimento (FCS) oscila entre el 9 y el 50 %. Estos datos suponen un riesgo importante y esas garantías deben establecerse.

Los productos analizados no han presentado ninguna no conformidad respecto a *Listeria monocytogenes*, ni tampoco con respecto al parámetro indicador *Listeria* spp. Los resultados nos han indicado buenas prácticas de fabricación, teniendo en cuenta que algunos de los productos analizados, tenían exposición después del tratamiento térmico.

#### 4.2.2.1.3. Resultados del conjunto de las morcillas

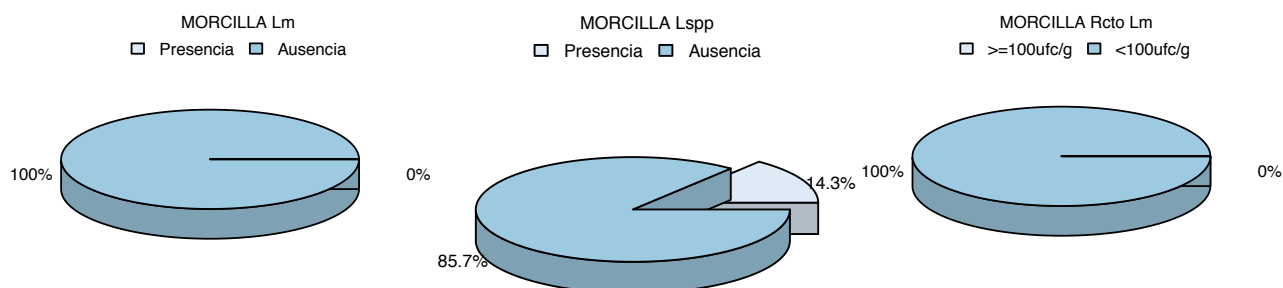


Figura 59. Resultados en las morcillas. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Producto cocido también muy representativo de los embutidos cocidos aragoneses. En muchas ocasiones, el etiquetado que presenta requiere el tratamiento por calor previo a su consumo, pero en otras no y, en esos casos, es cuando se convierte en un LPC. Además en algunas zonas existe la costumbre de consumirlo con un somero calentamiento inferior a la pasteurización que no eliminaría la presencia de *Listeria*.

En este producto no se ha detectado *Listeria monocytogenes* y si ha aparecido el parámetro indicador *Listeria* spp. (14,3 %). Esta presencia de otras especies de *Listeria* supone una amenaza y, como se ha comentado con otros productos cocidos, siendo el tratamiento térmico suficiente y estando bien controlado, se debe a contaminaciones en la zona de exposición posletal que hay que intentar eliminar. La presencia y persistencia de *L. monocytogenes* en forma de biofilms es la principal responsable de recontaminaciones o contaminaciones cruzadas que se dan en el procesamiento de alimentos LPC y, por tanto, uno de los principales focos de atención en la gestión del riesgo a nivel operacional (AESAN, 2010).

Los operadores expresaron cierta reticencia al envasado en caliente por motivos de calidad, pero si transcurre mucho tiempo entre tratamiento y envasado, se incrementa el riesgo. Debido a esto, una propuesta que se les trasladó fue utilizar un abatidor de temperatura en zona escrupulosamente higiénica inmediatamente después de cocción y envasar seguidamente.



#### 4.2.2.1.4. Resultados del conjunto de las salchichas Frankfurt

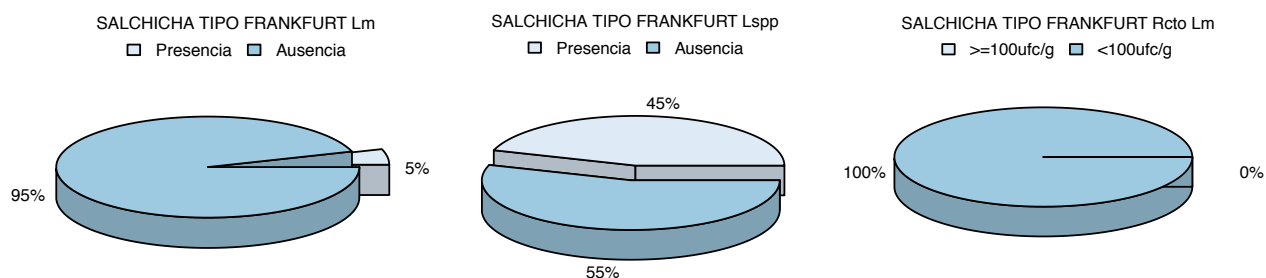


Figura 60. Resultados en las salchichas tipo Frankfurt. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Estos productos, en ocasiones, no son LPC y reciben el tratamiento requerido en el etiquetado previamente al consumo, pero, en algunas ocasiones, se consumen directamente o con calentamientos insuficientes. La resistencia de *L. monocytogenes* a tratamientos térmicos moderados (alrededor de 60°C) es superior a la de otros patógenos como *Salmonella* mostrando tiempos de reducción decimal (valor D) sustancialmente superiores (Heinz y Hautzinger, 2007). A partir de los 70°C los tiempos de reducción decimal de *L. monocytogenes* se igualan o incluso son inferiores a los de *Salmonella* mostrándose más sensible (Lado y Yousef, 2007). Las industrias que las elaboraban, no tenían un grado de especialización y tecnificación alto para fabricarlas porque compartían la producción con otra numerosa serie de productos cárnicos.

Los resultados han puesto de manifiesto una contaminación escasa por *Listeria monocytogenes* (5 %), más importante por *Listeria* spp. (45 %) y ninguna muestra ha tenido recuentos superiores a 100 ufc/g de *L. monocytogenes*.

Como en productos cárnicos cocidos anteriores el tratamiento térmico debe ser eficaz y las manipulaciones posteriores de pelado y envasado, exigen ser realizadas en condiciones de higiene excelentes para evitar contaminaciones cruzadas.

#### 4.2.2.2. Resultados del conjunto de las superficies

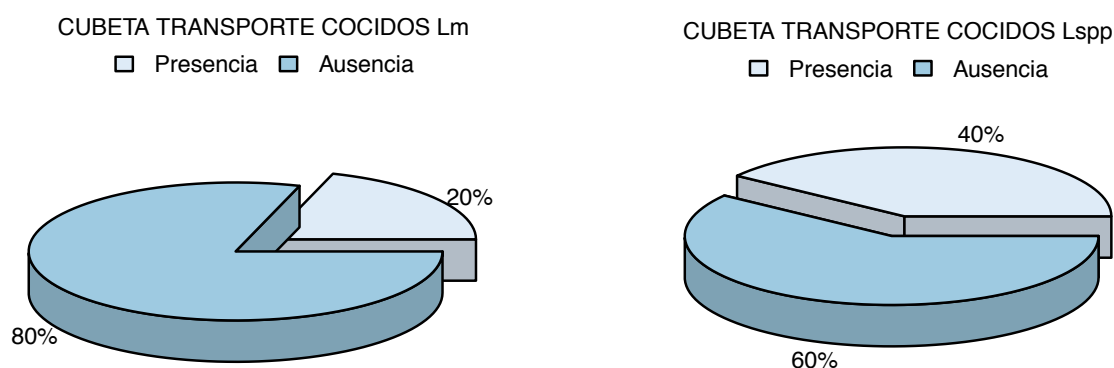


Figura 61. Resultados de las superficies de las cubetas de transporte de cocidos.

Detección de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.

Los resultados en esta superficie de contacto directo de una industria de productos cárnicos cocidos son similares a los generales para las mismas e indican contaminación importante en las industrias. Debe tenerse en cuenta que la gran mayoría de los establecimientos no tiene líneas exclusivas de productos cárnico cocido y esto trae consigo la utilización de zonas, equipos, útiles y manipuladores comunes a los de otros productos de mayor riesgo, como los picados crudos curados o los preparados de carne.

Las medidas de control adquieren, por tanto, una enorme importancia.

#### 4.2.2.3. Medidas de control puestas en práctica en este grupo

Tabla 53. Medidas de control tomadas en el conjunto de las industrias de productos cocidos y su proporción

VARIABLES	FRECUENCIAS	PROPORCIÓN	PORCENTAJE
LD secado	4	0,069	6,9
Caracterización pH y $a_w$	5	0,086	8,62
Estudios de vida útil	3	0,052	5,17
Homologación de proveedores	3	0,052	5,17
LD desmontado de equipos	1	0,017	1,72
LD procedimiento	5	0,086	8,62
Condensaciones y salpicaduras	1	0,017	1,72

Etiquetado	1	0,017	1,72
Laboratorio técnicas análisis	2	0,034	3,45
Exposición posletal	2	0,034	3,45
Control potabilidad agua	1	0,017	1,72
Incremento muestras (verificación superficies y producto)	3	0,052	5,17
Laboratorio técnicas	1	0,017	1,72
Plan de mantenimiento	1	0,017	1,72
Formación específica manipulador	2	0,034	3,45
APPCC establecer (PCC)	2	0,034	3,45
Investigación causas	1	0,017	1,72
Plan específico control <i>Listeria</i>	1	0,017	1,72
APPCC revisión	1	0,017	1,72
APPCC análisis de riesgo	1	0,017	1,72
Laboratorio introducir técnica <i>L. monocytogenes</i>	1	0,017	1,72
Estructurales (sustitución suelo)	1	0,017	1,72
Formación específica responsables	1	0,017	1,72
LD nuevos equipos	1	0,017	1,72
Cambio en operativos orden	2	0,034	3,45
Implantación PNCH	2	0,034	3,45
Aditivos manejo	2	0,034	3,45
LD formación	2	0,034	3,45
Reducción del tiempo de enfriamiento en cocidos	2	0,034	3,45
LD procedimiento	1	0,017	1,72

LD (limpieza y desinfección); PNCH (programa normalizado de control de la higiene)

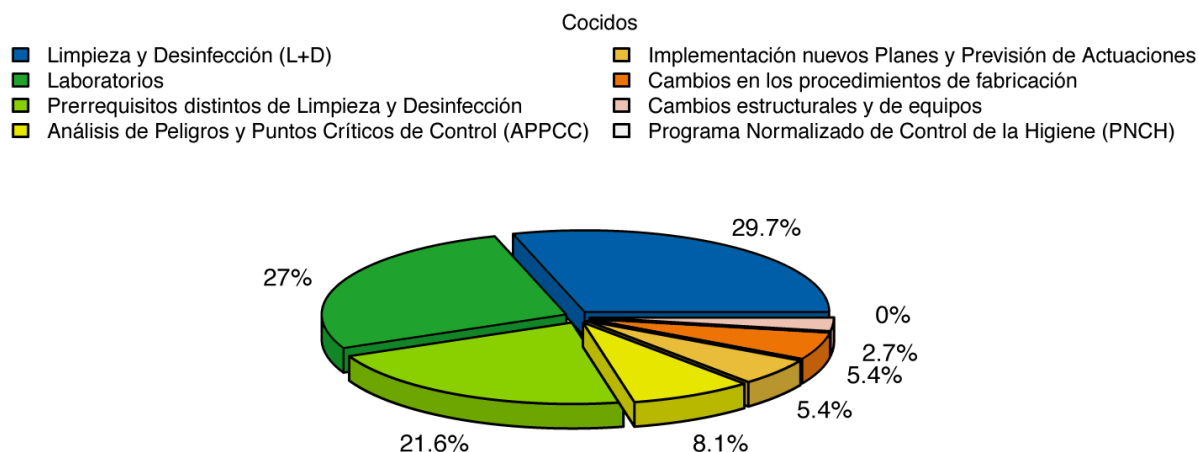


Figura 62. Grupo cocidos. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas

El número de muestras contaminadas con *Listeria monocytogenes* (1,8%) es muy similar al obtenido en un extenso trabajo (3530 muestras) realizado por EFSA entre 2010 y 2011 sobre la presencia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos cocidos LPC que escasamente alcanzó el 2,07% (EFSA/ECDC, 2013b).

En este grupo los cambios en los planes de limpieza y desinfección suponen el primer grupo de medidas de control implantado, seguido de los métodos de muestreo y análisis y de los prerrequisitos distintos de limpieza y desinfección. Hay que destacar la formación, porque resulta esencial para manipular adecuadamente estos alimentos en la zona de exposición posletal, que debe ser una zona hierática en la industria con medidas muy especiales (lo ideal sería una sala blanca), pero, como esto no es posible en muchas ocasiones, deben extremarse las medidas y el personal que manipula y el específico de limpieza tienen que estar muy bien formados.

Otro aspecto a destacar y potenciar, además de la zonificación o zonas secas de máxima seguridad, son los cambios en los procedimientos de fabricación (5,4%) realizando estas operaciones delicadas con la industria limpia, los manipuladores sin haber trabajado en otra zona menos higiénica y con el ambiente en las mejores condiciones. Estas medidas hacen referencia a la organización del trabajo y prioridades en el orden. En el APPCC también es clave que los PCC situados en los tratamientos térmicos existentes, tanto letales como posletales en su caso, cumplan con sus límites, vigilancia, verificación, registro y medidas de control tras investigar la causa. Un estudio actual de la prestigiosa Fundación del Instituto Norteamericano de la Carne (NANIF) confirma que *L. monocytogenes* sufre un proceso de letalidad garantizado al someter los LPC a 71,1°C/15 min en el centro de los mismos (Sindelar y cols., 2016).

### 4.2.3. Grupo de las salazones

Se representan los porcentajes de detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. en los productos, superficies y productos más característicos.

#### 4.2.3.1. *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. en productos y superficies

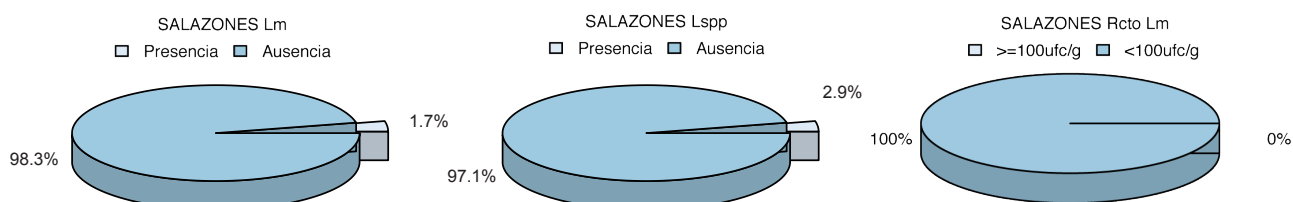


Figura 63. Resultados en los productos cárnicos en salazón. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Los resultados de los productos cárnicos en salazón han sido satisfactorios (1,7% para *L. monocytogenes* y en 2,9% para *Listeria* spp.). Además, ningún producto ha incumplido el criterio microbiológico. Los procesos de fabricación les aportan garantías de seguridad.

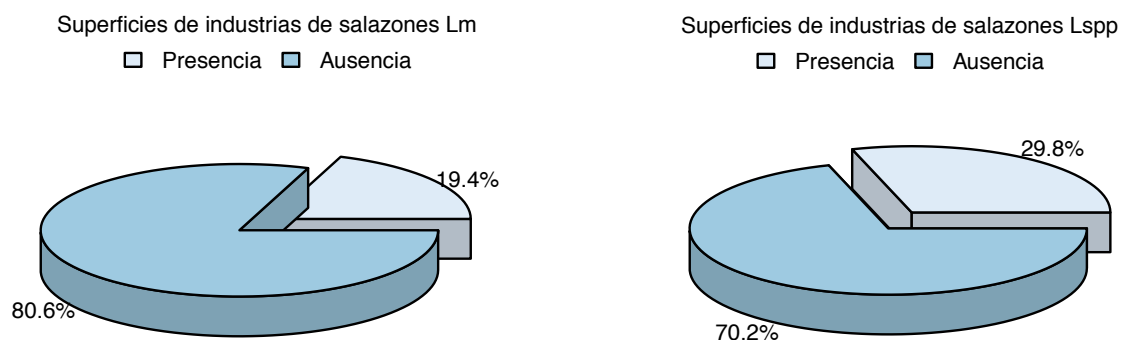


Figura 64. Resultados de las superficies. Detección de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.

A pesar de los buenos resultados en productos, las superficies siguen presentando altos niveles de contaminación (19,4% para *L. monocytogenes* y 29,8% para *Listeria* spp.) y el consiguiente riesgo. Esto implica que deben mantenerse las garantías en los procesos y mejorar las condiciones ambientales de las plantas, fundamentalmente con el plan de limpieza y desinfección y el programa normalizado de control de la higiene (PNCH).

#### 4.2.3.1.1. Resultados del conjunto de los jamones curados

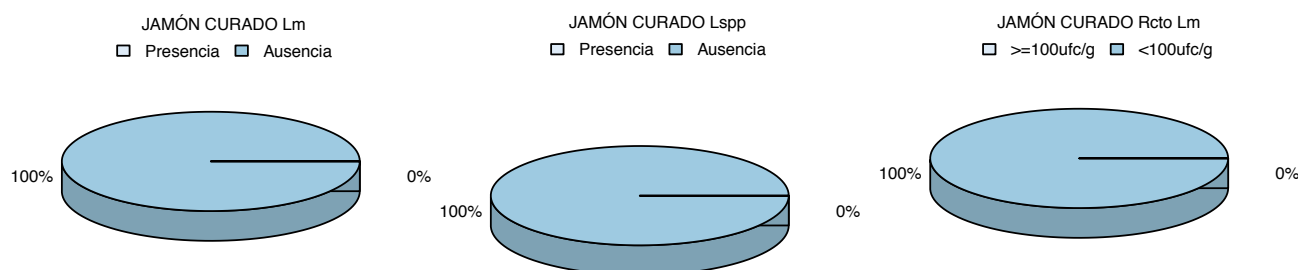


Figura 65. Resultados en los jamones curados. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Es nuestro producto estrella con la denominación de origen (DO) en Teruel y una especialización en la producción y, más recientemente en la transformación, en crecimiento exponencial. Disponemos de muy buenas instalaciones y 3 establecimientos autorizados para exportar a EE. UU., que supone el máximo nivel de exigencia sanitaria y muy concretamente en el ámbito del control de *Listeria monocytogenes*.

Se ha mostrado como un producto seguro sin presencia de *L. monocytogenes* ni presencia de *Listeria* spp. Estos resultados son inferiores a los obtenidos en Italia en el jamón de Parma (4,1 %) (Giovannini y cols., 2007) y en España (2,7 %) (Gomez y cols., 2015). Ha habido alguna variación en cuanto a la  $a_w$  que se achaca a los distintos niveles de curación que tenían los jamones oscilando entre 5 y 24 meses. Lógicamente cuanto más tiempo de curado poseen, la  $a_w$  desciende y su seguridad se incrementa.

Cobran importancia la higiene de las dependencias finales donde el jamón, una vez terminado, se prepara y los procesos de esta última parte como la cata o el enmantecado.

#### 4.2.3.1.2. Resultados del conjunto del lomo ibérico

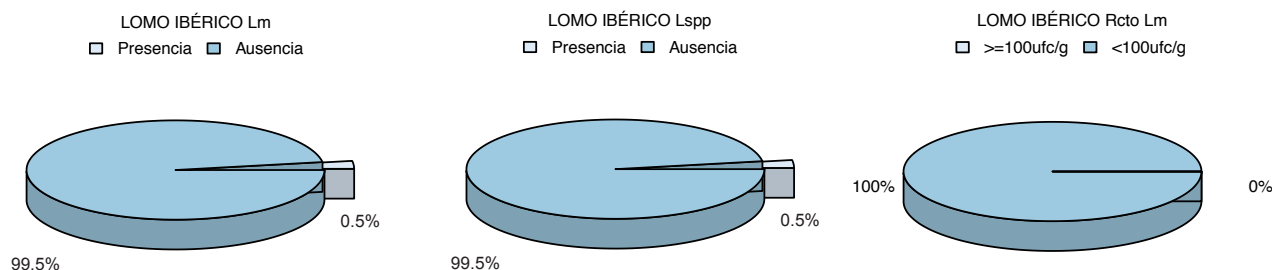


Figura 66. Resultados en los lomos ibéricos. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Estamos ante otro producto muy seguro con resultados de pH y  $a_w$  que no permiten el crecimiento y desarrollo de *Listeria*. Además los resultados obtenidos en cuanto a presencia de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp., son muy bajos (0,5 %) en ambas determinaciones.

El salado en las distintas fases, su formulación con aditivos que le aportan seguridad (NAMI, 2016) y, sobre todo, su nivel de curación con el consiguiente descenso de la actividad agua, ofrecen las garantías de cumplimiento de la normativa.

#### 4.2.3.2. Resultados del conjunto de las superficies

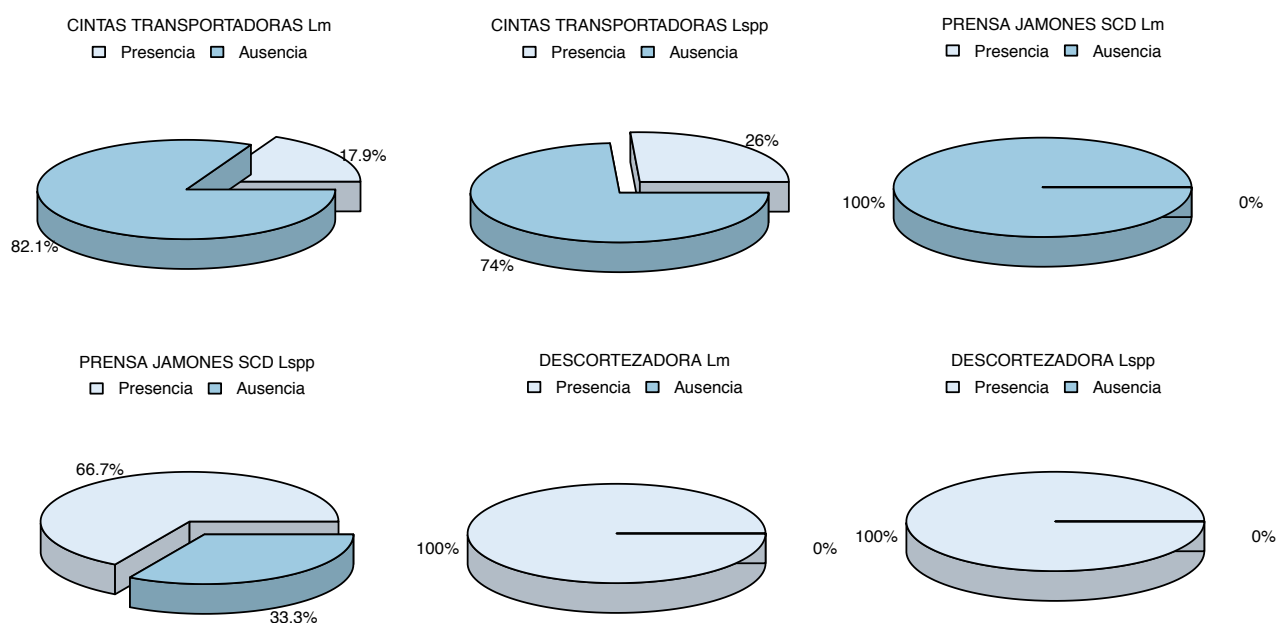


Figura 67. Resultados del conjunto de superficies de las salazones (cintas transportadoras, descortezadoras y prensas de jamón). Detección de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.

Los resultados se ajustan a las distintas fases del proceso discurriendo desde zonas menos higiénicas o de producto fresco a zonas más higiénicas o de producto terminado. En este tipo de industrias esta diferenciación resulta fundamental. Hemos pasado de *Listeria monocytogenes* (17,9%) y *Listeria* spp. (26%) en cintas transportadoras de jamones frescos; a ausencia de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp. (66,7%) en prensas situadas todavía en área de producto fresco; y finalmente a no detectar ni *L. monocytogenes* ni *Listeria* spp. en la descortezadora, situada en zona de producto terminado.

Estos resultados indican que además del plan de limpieza y desinfección, la homologación de proveedores es un prerequisite clave. Hay que decir que, en este tipo de establecimientos, al

operador le resulta muchas veces difícil ser exigente en este aspecto, porque el proveedor tiene la doble condición de proveedor y cliente del secadero. Se les indicó como referencia a seguir en las muestras ambientales, la guía técnica elaborada por el laboratorio de referencia de la UE para *L. monocytogenes* (EURL) (ANSES y EURL Lm, 2012). En los apartados 10 y 11 se recogen los aspectos más relevantes del control de esta contaminación y las recomendaciones para el muestreo de áreas y equipamientos utilizados para la producción de alimentos LPC.

#### 4.2.3.3. Medidas de control puestas en práctica en este grupo

Tabla 54. Medidas de control tomadas en el conjunto de las industrias de productos en salazón y su proporción

VARIABLES	FRECUENCIAS	PROPORCIÓN	PORCENTAJE
LD secado	2	0,038	3,85
Caracterización pH y $a_w$	2	0,038	3,85
Estudios de vida útil	4	0,077	7,69
Homologación de proveedores	3	0,058	5,77
LD procedimiento	6	0,115	11,54
LD rotación	1	0,019	1,92
Etiquetado	1	0,019	1,92
MCA	2	0,038	3,85
Laboratorio técnicas muestreo	2	0,038	3,85
Laboratorio técnicas análisis	1	0,019	1,92
APPCC descripción de productos	1	0,019	1,92
Incremento muestras verificación superficies	1	0,019	1,92
APPCC justificaciones científicotécnicas	2	0,038	3,85
Incremento muestras verificación producto	1	0,019	1,92
APPCC registros	1	0,019	1,92
Formación específica manipulador	1	0,019	1,92
PNCH	3	0,058	5,77
APPCC verificación	1	0,019	1,92
Análisis de tendencias	1	0,019	1,92
APPCC diagramas flujo	1	0,019	1,92



Investigación causas	1	0,019	1,92
APPCC análisis riesgo	1	0,019	1,92
Estructurales separación fresco procesado	1	0,019	1,92
Laboratorio acreditación	1	0,019	1,92
Actuación ante positivos superficies y productos	1	0,019	1,92
Laboratorio introducir técnicas	1	0,019	1,92
Externalización servicios loncheado	1	0,019	1,92
Tolerancia en superficies	1	0,019	1,92
Sustitución e incorporación de equipos	1	0,019	1,92
Actuación ante positivos superficies	1	0,019	1,92
Laboratorio técnicas muestreo	1	0,019	1,92
Incremento muestras verificación superficies y producto final	1	0,019	1,92
PNCH implantación	2	0,038	3,85

LD (limpieza y desinfección); MCA (materiales en contacto con alimentos);  
PNCH (programa normalizado de control de la higiene)

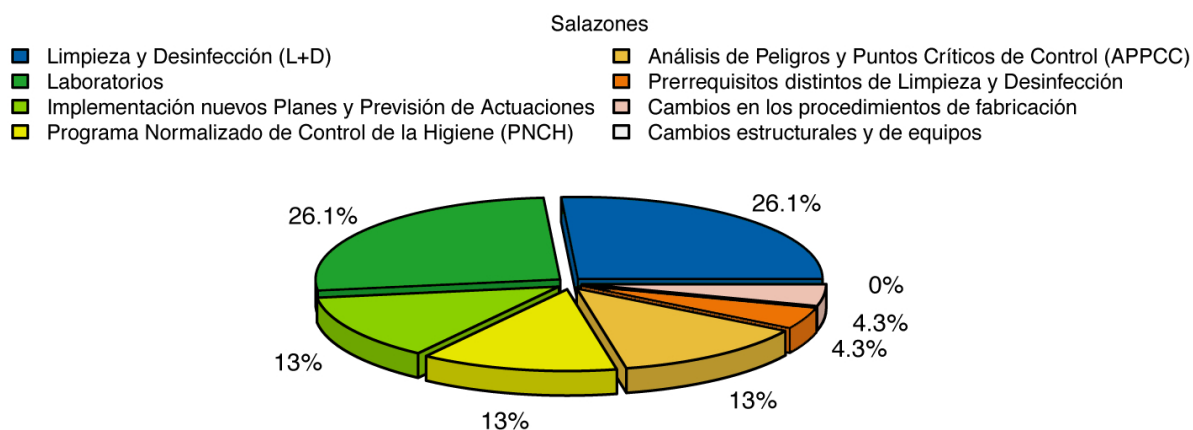


Figura 68. Grupo salazones. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas

Las medidas de control más implementadas han hecho referencia al plan de limpieza y desinfección y a disponer de buenos controles laboratoriales en técnicas de muestreo y de análisis.

Sin embargo, hay que insistir y potenciar los siguientes grupos de medidas. Un programa normalizado de control de la higiene (PNCH) bien aplicado, vigilado y verificado será herramienta

fundamental para evitar la contaminación cruzada junto a las medidas estructurales de separación absoluta de la zona de fresco y la zona de producto terminado y tanto en accesos, vestuarios y personal, restringiendo el acceso de una parte a la otra, como en útiles, herramientas y equipos. Determinación de tiempos mínimos de curado justificados científicamente en el APPCC y estableciendo puntos de control que puedan considerarse críticos, en la nitrificación y el curado mínimo. El jamón curado debe garantizar una  $a_w$  suficientemente baja ( $<0,90$ ), pues sabemos que el jamón con  $a_w$  elevada presenta un riesgo moderado de contaminación y/o crecimiento de *L. monocytogenes* (Innovac, 2013; Aymerich y cols., 2014). También es positivo implantar un punto de control a la recepción que sea exigente y rechace las piezas que no cumplan los estándares establecidos. Respetar todas las fases de salado, postsalado y maduración con sus cargas de sal, temperaturas y tiempos, en un proceso absolutamente sistematizado y evaluado. Asimismo debe potenciarse la formación de manipuladores y personal de limpieza.

#### 4.2.4. Grupo de los productos loncheados

Se representan los porcentajes de detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria spp.* en los productos, superficies y productos más característicos.

##### 4.2.4.1. *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.* en productos y superficies

Debido a la variabilidad que, según el tipo de productos a lonchea presentar, exponemos los resultados de los tres grupos principales: loncheados crudos curados, salazones cárnicos loncheados y loncheados cocidos.

##### 4.2.4.1.1. Resultados del conjunto de los loncheados crudos curados

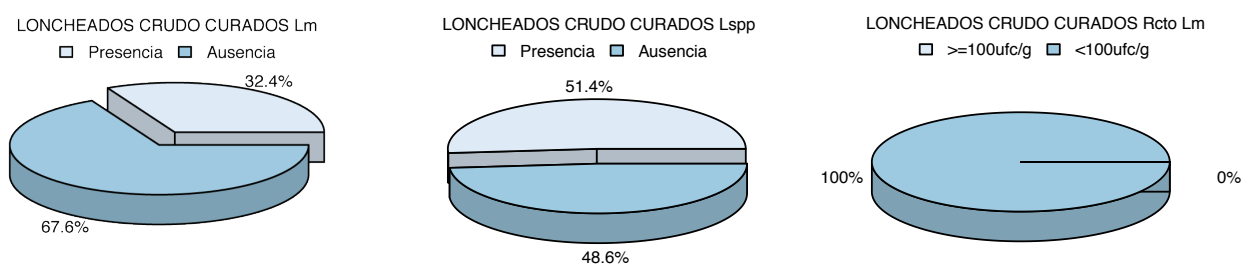


Figura 69. Resultados del grupo de los loncheados crudos curados.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria spp.* y recuento de *L. monocytogenes*

Los resultados indican presencia importante de contaminación por *L. monocytogenes* (32,4%) y *Listeria* spp. (51,4%). Ningún producto incumple el criterio microbiológico. Estamos ante productos que basan su seguridad en sus características fisicoquímicas de pH y  $a_w$ .

#### 4.2.4.1.2. Resultados del conjunto de los loncheados en salazón

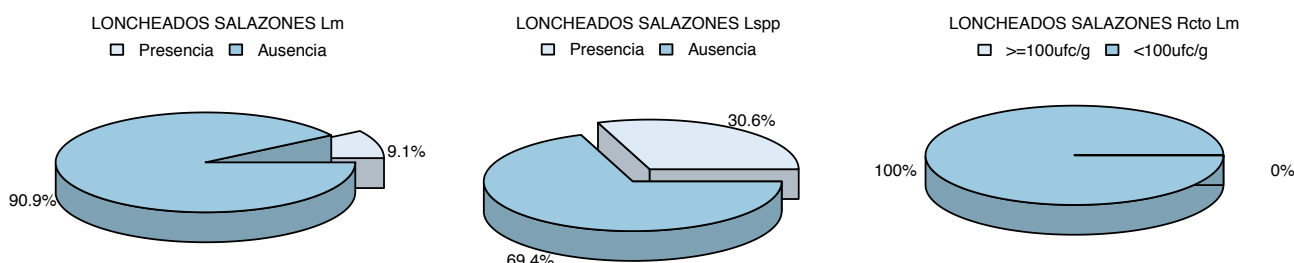


Figura 70. Resultados del grupo de los loncheados salazones.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Los resultados presentan una contaminación menor que en el caso de los picados crudos curados, pero apreciable y de riesgo. En el caso de *L. monocytogenes* (9,1%) y en *Listeria* spp. (30,6%), sin incumplimientos del criterio microbiológico. Su seguridad exigen garantías en los procesos y mejoras en las condiciones ambientales de las instalaciones.

#### 4.2.4.1.3. Resultados del conjunto de los loncheados cocidos

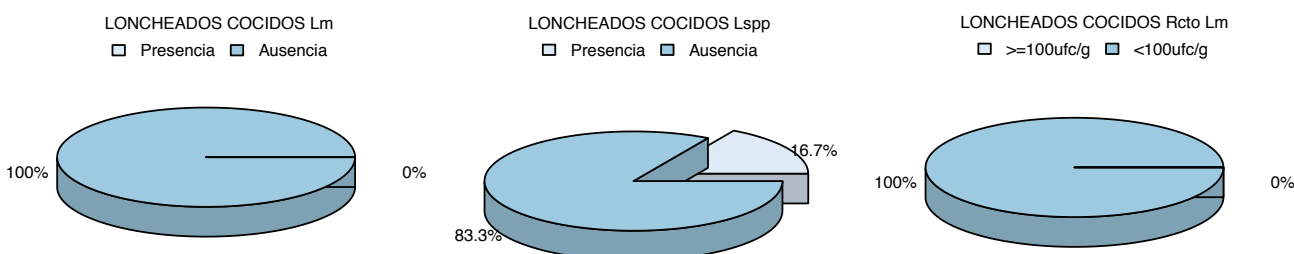


Figura 71. Resultados del grupo de los loncheados cocidos.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

En el grupo de los loncheados cocidos no se detecta *L. monocytogenes* y aparece el indicador *Listeria* spp. en un 16,7% de las muestras. Deben mantenerse las alertas y mejorar la limpieza y desinfección y el programa normalizado de control de la higiene (PNCH), ya que la zona de riesgo está situada entre el tratamiento térmico y el envasado.

#### 4.2.4.1.4. Resultados del conjunto de los loncheados de jamón

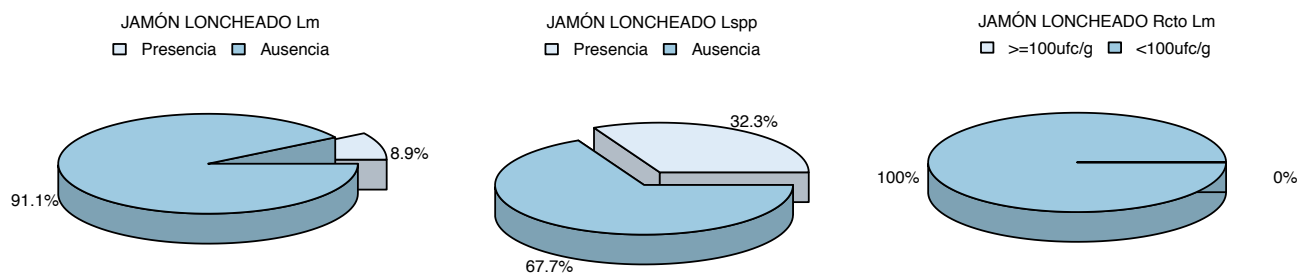


Figura 72. Resultados en los loncheados de jamón.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Los resultados obtenidos han sido presencia de *Listeria monocytogenes* (8,9%), presencia de *Listeria* spp. (32,3 %) y todos los recuentos de *L. monocytogenes* han sido menores de 10 ufc/g. Sin tratarse de resultados alarmantes y cumpliendo la legislación UE estas cifras son mejorables. Es cierto, que la mayor parte de este producto es tratado posteriormente por altas presiones hidrostáticas (HPH), logrando reducciones decimales de entre 3 y 6 logaritmos (AESAs, 2005), pero este tratamiento debe considerarse de seguridad sobre una mínima contaminación superficial final y no relajar las medidas de control previas en todo el procesado.

En este tipo de industrias las condiciones exigibles son una consistente homologación de proveedores, un sala blanca para lonchear o, en su defecto, una zona con las mejores condiciones higiénicas posibles y aislada del resto de la planta, un programa normalizado de control de la higiene (PNCH) bien implantado y que efectúe las limpiezas operativas necesarias en el equipo de loncheado y reducir al máximo la exposición posterior al loncheado del producto envasándolo inmediatamente. Un punto de máximo riesgo en estas industrias son, si existen, los potros de deshuesado de jamones debido a que la manipulación es grande y la limpieza difícil por lo que se deberán someter a exhaustivas medidas de control.

#### 4.2.4.1.5. Resultados del conjunto de los loncheados de chorizo

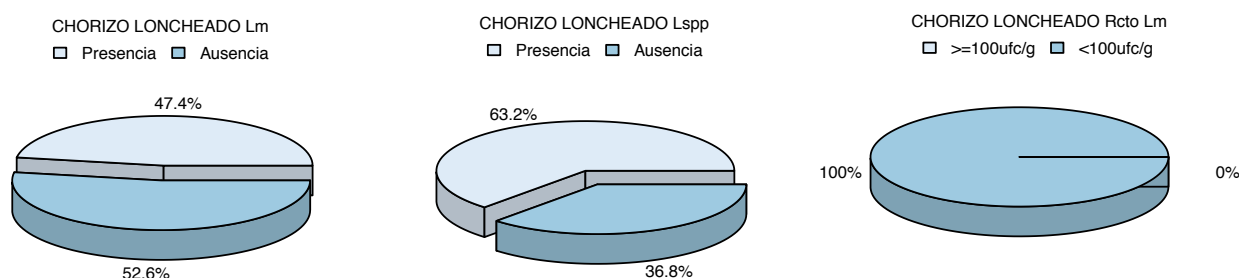


Figura 73. Resultados en los loncheados de chorizo.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Los resultados en el chorizo loncheado no son satisfactorios, presentando *Listeria monocytogenes* (47,4%) y *Listeria* spp. (63,2%); aunque ningún recuento de los positivos a *L. monocytogenes* supera las 100 ufc/g. Es decir, estamos ante un producto que ya en pieza entera, registra contaminación y que, al sumarse con un proceso de loncheado insatisfactorio, recibe más carga de *listeria*.

Si las industrias tienen justificaciones consistentes y productos bien caracterizados estarán cumpliendo la normativa UE, pero podrán tener serios problemas en el ámbito de la exportación. Deberán controlar los chorizos que se van a lonchar (formulación, fermentación y curado fundamentalmente) y también el proceso del loncheado. Los operadores deberían de tener en cuenta, entre otros, un estudio de evaluación del riesgo en fiambres loncheados, que pone de manifiesto la alta probabilidad de contaminación a partir de las superficies de corte (Hoelzer y cols., 2012).

#### 4.2.4.1.6. Resultados del conjunto de los loncheados de lomo ibérico

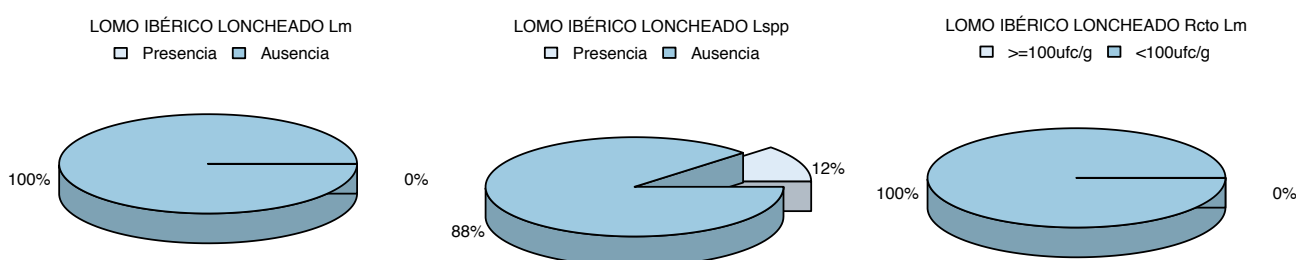


Figura 74. Resultados en los loncheados de lomo ibérico.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Se ha constatado que se parte de un producto muy seguro en pieza que no precisa para su loncheado de las fases de manipulación y potencial contaminación que necesita el jamón (deshuesado, prensado, congelado) y que, por tanto, ofrece mejores resultados que aquél.

Los resultados del lomo ibérico loncheado han sido satisfactorios, sin presencia de *Listeria monocytogenes* y con un porcentaje aceptable del indicador *Listeria* spp. (12 %). Esa presencia de *Listeria* spp. puede perfectamente ser debida al medio ambiente industrial de la zona de loncheado (Comisión Europea, 2013), al equipo propiamente dicho o a que los lomos presentasen una ligera contaminación superficial en origen.

#### 4.2.4.1.7. Resultados del conjunto de los loncheados de salchichón

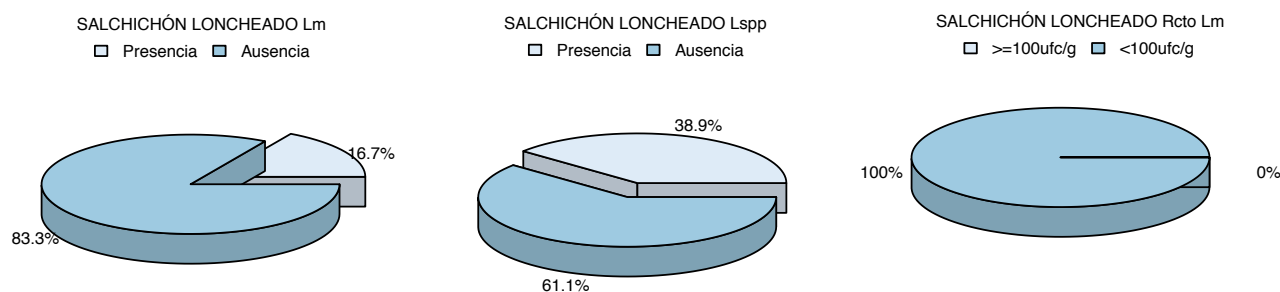


Figura 75. Resultados en los loncheados de salchichón.

Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria* spp. y recuento de *L. monocytogenes*

Los resultados en el salchichón loncheado tampoco son satisfactorios, aunque mejores que en el chorizo: *Listeria monocytogenes* (16,7 %) y *Listeria* spp. (38,9 %). En este caso, tampoco se superó el umbral de 100 ufc/g por parte de ninguna muestra. El salchichón por tener una mayor curación presenta  $a_w$  inferior y, como hemos visto, es más seguro.

A partir de estos resultados, se tienen que fijar las medidas de mejora en el procedimiento de loncheado en cuanto a equipos, ambiente, formación, plan de limpieza y desinfección y condiciones de envasado, sin descuidar que el producto matriz haya cumplido las especificaciones que se le suponen. Se les indicaron las recomendaciones establecidas para la manipulación del producto, la limpieza y desinfección, las instalaciones y el control de equipos y las prácticas de los empleados, en la guía del FSIS para el control de *L. monocytogenes* (FSIS, 2015).

#### 4.2.4.2. Resultados del conjunto de las superficies

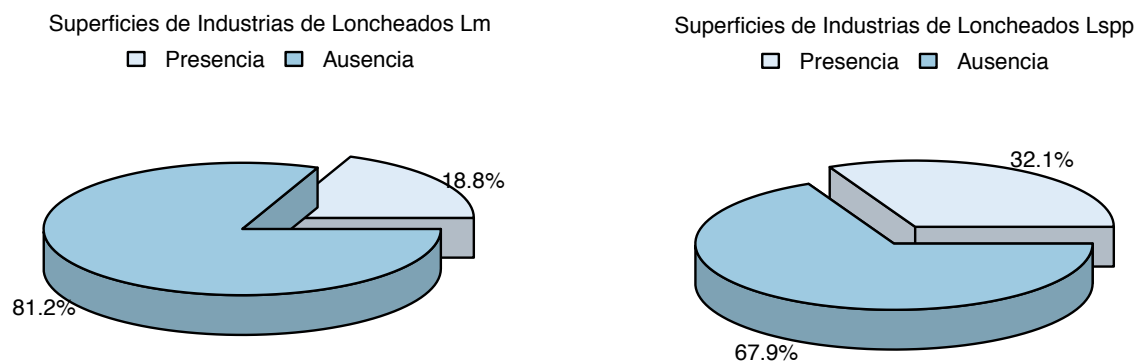


Figura 76. Resultados de las superficies de las industrias de loncheados.

Detección de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.

Los resultados del conjunto de las superficies de establecimientos de loncheado presenta una alta contaminación, encontrando *L. monocytogenes* en un 18,8 % y *Listeria* spp. en un 32,1 %. Estos resultados están sesgados por el subgrupo de los loncheados picados crudos curados que presenta peores resultados. No obstante, las medidas de control buscan tanto mejorar la calidad microbiológica de los productos íntegros iniciales, como las condiciones de las salas de loncheado.

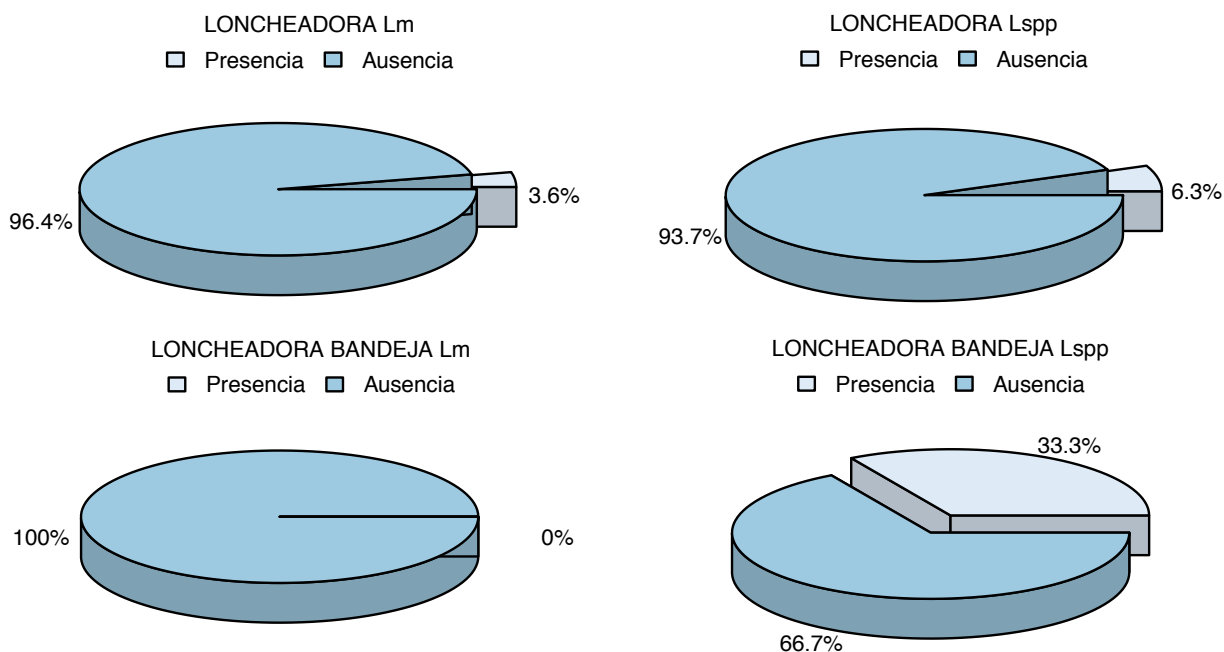


Figura 77. Resultados de las superficies de las loncheadoras y de las bandejas de contacto.

Detección de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp.

El control ambiental por medio del muestreo de superficies, especialmente las que entran en contacto directo con los alimentos LPC, se considera más importante que el análisis del producto final (Luber y cols., 2011; FSIS, 2014b). También está bien demostrado que las FCS suponen una fuente que transfiere el patógeno a los alimentos LPC y que luego en los brotes de toxiinfección alimentaria obtenemos los mismos genotipos que en las superficies (Martín y cols., 2014).

Los resultados en las superficies de las loncheadoras detectan *Listeria monocytogenes* (3,6 %) y *Listeria* spp. (6,3 %). En las bandejas que recogen las lonchas muestran únicamente *Listeria* spp. (33,3 %). Estos porcentajes, aunque se pueden considerar aceptables, nos indican el riesgo de contaminación existente.

En cuanto a las medidas de control y, por supuesto, teniendo en cuenta todas las consideraciones hechas sobre el producto matriz, el programa normalizado de control de la higiene (PNCH) con sus operativos, el ambiente higiénico y la formación del personal constituyen los aspectos a mejorar para reducir el riesgo.

Los muestreos en las superficies de las loncheadoras *L. monocytogenes* (3,6 %) y *Listeria* spp. (6,3 %) y en las bandejas que recogen las lonchas, ausencia de *L. monocytogenes* y *Listeria* spp. (33,3 %) son aceptables, pero nos indican el riesgo de contaminación existente. Además de todas las consideraciones hechas sobre el producto matriz el PNCH con sus operativos, el ambiente y la formación del personal son los aspectos a mejorar para reducir el riesgo.

#### 4.2.4.3. Medidas de control puestas en práctica en este grupo

Tabla 55. Medidas de control tomadas en el conjunto de las industrias de productos loncheados y su proporción

VARIABLES	FRECUENCIAS	PROPORCIÓN	PORCENTAJE
LD seco	1	0,015	1,47
Caracterización pH y $a_w$	2	0,029	2,94
Estudios de vida útil	2	0,029	2,94
Homologación de proveedores	2	0,029	2,94
LD procedimiento	2	0,029	2,94
Condensaciones y salpicaduras	2	0,029	2,94
Mesa FCS	1	0,015	1,47
Desinfección ambientales	2	0,029	2,94



MCA	4	0,059	5,88
Laboratorio técnicas muestreo	2	0,029	2,94
Laboratorio técnicas análisis	2	0,029	2,94
APPCC descripción de productos	2	0,029	2,94
Aditivos concentración	1	0,015	1,47
Aditivos etiquetado	1	0,015	1,47
APPCC justificaciones científicotécnicas	1	0,015	1,47
Aditivos retirada	1	0,015	1,47
Exposición posletal	4	0,059	5,88
Control potabilidad agua	1	0,015	1,47
APPCC registros	1	0,015	1,47
Incremento muestras verificación superficies y producto	4	0,059	5,88
Plan mantenimiento	2	0,029	2,94
Formación específica manipulador	2	0,029	2,94
APPCC verificación	2	0,029	2,94
Investigación causas	3	0,044	4,41
APPCC revisión	1	0,015	1,47
LD desmontaje de equipos	1	0,015	1,47
APPCC establecer (PCC)	1	0,015	1,47
Procedimiento pre y operativo revisión	4	0,059	5,88
APPCC análisis de riesgo	1	0,015	1,47
Laboratorio acreditación	1	0,015	1,47
Actuación ante positivos superficies y productos	1	0,015	1,47
Laboratorio introducir técnica <i>Listeria</i> spp.	2	0,029	2,94
Tolerancia en superficies	3	0,044	4,41
Diseño higiénico de equipos	2	0,029	2,94
Sustitución e incorporación de equipos	2	0,029	2,94
Incorporar tratamiento posletal	1	0,015	1,47
Introducir analíticas ambientales	1	0,015	1,47

LD (limpieza y desinfección); FCS (contacto directo con los alimentos);

MCA (materiales en contacto con alimentos)

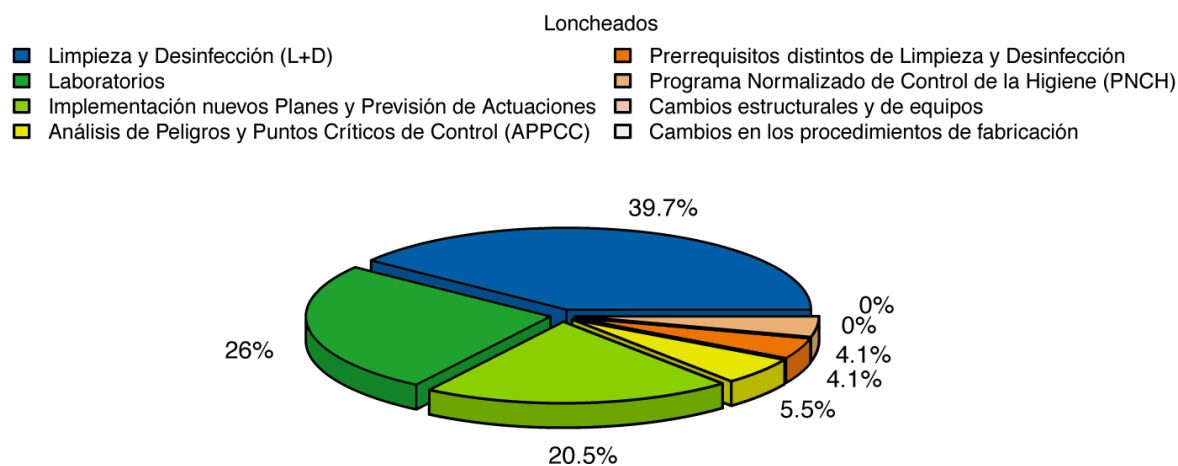


Figura 78. Grupo loncheados. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas

Los resultados nos indican la necesidad de procedimientos y equipos de loncheado que ofrezcan garantías. Hemos visto que las contaminaciones son más importantes en los crudos curados *Listeria monocytogenes* (32,4%) y *Listeria* spp. (51,4%); luego vendrían las salazones *L. monocytogenes* (9,1%) y *Listeria* spp. (30,6%) y finalmente los cocidos *L. monocytogenes* (ausencia) y *Listeria* spp. (16,7%). En este último grupo los resultados son mejores que los publicados en un trabajo sobre ellos en Navarra (8,8%) (Vitas y cols., 2004).

Entre las medidas que se deben potenciar con claridad está el programa normalizado de control de la higiene (PNCH) al que solo han ido dirigidas un (4,1%) de las medidas y los prerrequisitos distintos del plan de limpieza y desinfección, principalmente el plan de formación, el plan de homologación de proveedores y el plan de mantenimiento, que también han dispuesto de un escaso (4,1%). Asimismo, se consideran necesarias las mejoras estructurales dotándose de salas blancas o dependencias que se aproximen en lo posible a sus condiciones y medidas que afecten al material de envasado con sus posibles características antimicrobianas. Debemos decir, que un porcentaje importante de los operadores económicos realizan tratamientos posletales sometiendo los envases de loncheados a altas presiones hidrostáticas (HPP) previamente a su envío al cliente, pero nuestras muestras se han tomado a partir de sobres de loncheados sin recibir ningún tratamiento. Alguna industria también podría someter estos envases a una pasteurización por escaldado de 90°C/2 min o similar, siempre que no tenga consecuencias negativas para la calidad del producto. Los tratamientos HPP deben estar cuantificados, en estudio previo, especificando la reducción logarítmica que se consigue (p. ej. con 500MPa/8 min será de 3 log) (Bover y Garriga, 2014).

#### 4.2.5. Grupo de los platos preparados cárnicos

##### 4.2.5.1. *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.* en productos y superficies

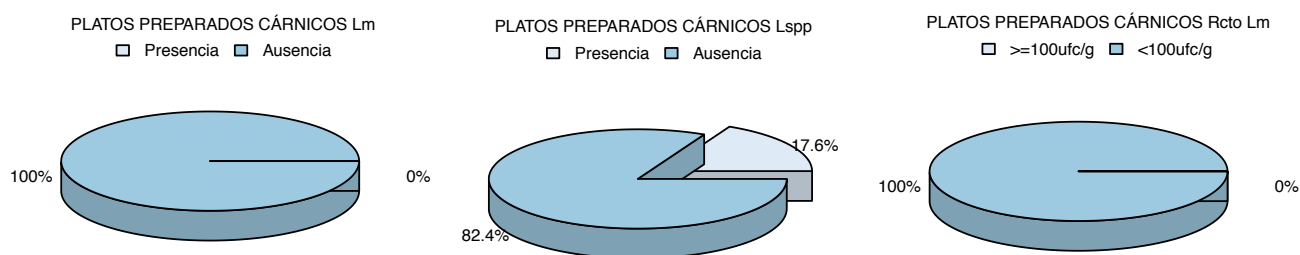


Figura 79. Resultados en los alimentos. Detección de *L. monocytogenes* y de *Listeria spp.* y recuento de *L. monocytogenes*

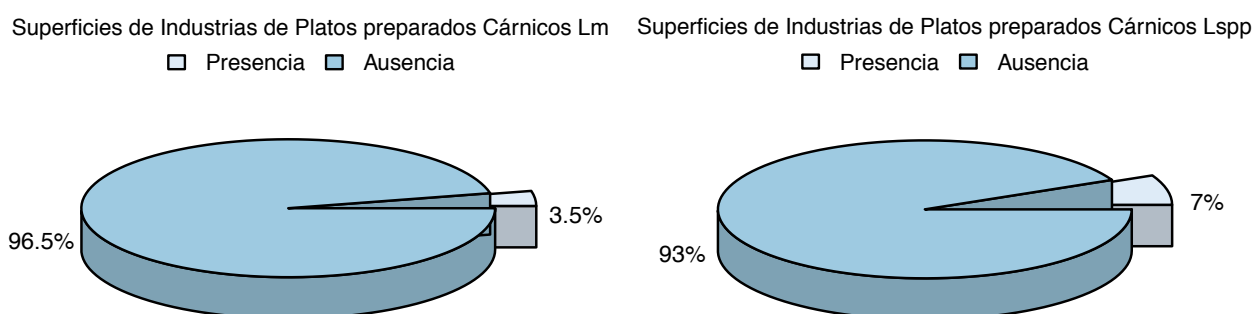


Figura 80. Resultados de las superficies. Detección de *L. monocytogenes* y *Listeria spp.*

Se trata de productos LPC que han sufrido un tratamiento térmico capaz de eliminar todas las bacterias patógenas, que constituye un PCC dentro del autocontrol y que está perfectamente controlado, después al igual que en el grupo de los cocidos existe una zona de exposición posletal previa al envasado que debe tener excelentes condiciones higiénicas de ambiente, equipos y manipulación. Interesará que el tiempo transcurrido entre el termoproceso y el envasado sea mínimo. Los resultados en este grupo han sido muy satisfactorios sin presencia de *L. monocytogenes* y con porcentajes bajos de *Listeria spp.* (17,8%) que achacamos al ambiente industrial. Una de estas industrias además sometía a todos sus LPC a una pasterización posenvasado.

En este grupo debido al escaso número de muestras existentes y a su variedad no se han representado gráficamente productos concretos y como tampoco está relacionado con superficies muy habituales, se han graficado algunas que podemos encontrar en cualquier industria cárnica, siendo los resultados bajos, pero no despreciables, porque indican un riesgo ambiental: 3,5% de positivos en *L. monocytogenes* y 7% en *Listeria spp.*

**4.2.5.2. Medidas de control puestas en práctica en este grupo**

Tabla 56. Medidas de control tomadas en el grupo de los platos preparados cárnicos

VARIABLES	FRECUENCIAS	PROPORCIÓN	PORCENTAJE
LD secado	4	0,04	3,74
Caracterización pH y $a_w$	4	0,04	3,74
Estudios de vida útil	2	0,02	1,87
Homologación de proveedores	3	0,03	2,8
LD desmontado de equipos	3	0,03	2,8
LD procedimiento	11	0,10	10,28
LD rotación	3	0,03	2,8
Condensaciones y salpicaduras	3	0,03	2,8
Etiquetado	2	0,02	1,87
Desinfección ambientales	2	0,02	1,87
Laboratorio técnicas muestreo	3	0,03	2,8
Laboratorio técnicas análisis	3	0,03	2,8
APPCC descripción de productos	1	0,01	0,93
Exposición posletal	2	0,01	1,87
Incremento muestras verificación superficies y producto	11	0,10	10,28
Formación específica manipulador	1	0,01	0,93
Incremento del tiempo de curación	2	0,02	1,87
PNCH	2	0,02	1,87
Investigación causas	8	0,08	7,48
LD específica de choque	7	0,07	6,54
Plan específico control <i>Listeria</i>	6	0,06	5,61
PNCH revisión	2	0,02	1,87
APPCC revisión	1	0,01	0,93
LD desmontado de equipos	2	0,02	1,87
Procedimiento pre y operativo revisión	1	0,01	0,93
Retirada de producto	3	0,03	2,8
APPCC análisis de riesgo	2	0,02	1,87

Laboratorio acreditación	2	0,02	1,87
Incremento muestras verificación materias primas	1	0,01	0,93
LS específica de choque	1	0,01	0,93
Alfombra antimicrobiana	1	0,01	0,93
Laboratorio introducir técnica ATP	1	0,01	0,93
Incremento muestras verificación manipuladores	1	0,01	0,93
APPCC descripción registros	1	0,01	0,93
Cierre de establecimiento	1	0,01	0,93
Técnicas muestreo	1	0,01	0,93
Control de temperaturas	1	0,01	0,93
Formación específica	1	0,01	0,93

LD (limpieza y desinfección; PNCH (programa normalizado de control de la higiene);

ATP (trifosfato de adenosina)

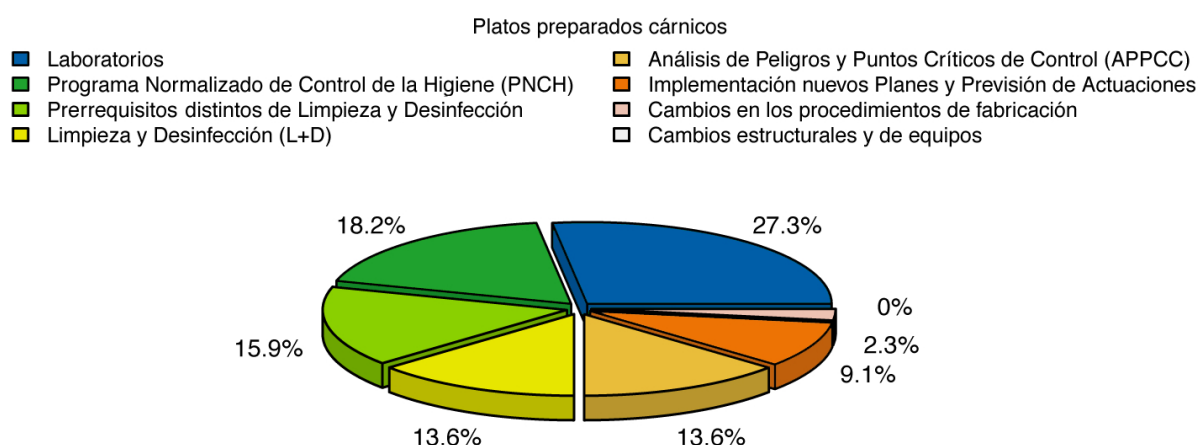


Figura 81. Grupo platos preparados cárnicos. Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas

Se trata de platos preparados cárnicos LPC que han sufrido un tratamiento térmico capaz de eliminar todas las bacterias patógenas, que constituye un PCC dentro del autocontrol y que está perfectamente registrado; después, al igual que en el grupo de los cocidos, existe una zona de exposición posletal previa al envasado que debe tener excelentes condiciones higiénicas de ambiente, equipos y manipulación. Interesará que el tiempo transcurrido entre el termoproceso y envasado sea mínimo.

Los resultados en este grupo han sido muy satisfactorios sin presencia de *Listeria monocytogenes* y con porcentajes aceptables de *Listeria* spp. (17,6 %) que achacamos al ambiente industrial. Mejoran incluso los obtenidos por algunos trabajos en Suecia (1,2 %) (Lambertz y cols., 2012) y Bélgica (1,1 %) (Uyttendale y cols., 2009). Una de estas industrias, además, sometía a todos sus platos preparados LPC a una pasteurización posenvasado que eliminaba las potenciales contaminaciones que pudieran tener lugar durante el enfriamiento y el envasado.

A continuación se presenta el gráfico general de las medidas de control tomadas en la totalidad de las 35 industrias según esos 8 grupos que hemos confeccionado para presentar una visión general de cuáles han sido las más habituales y en que porcentajes.

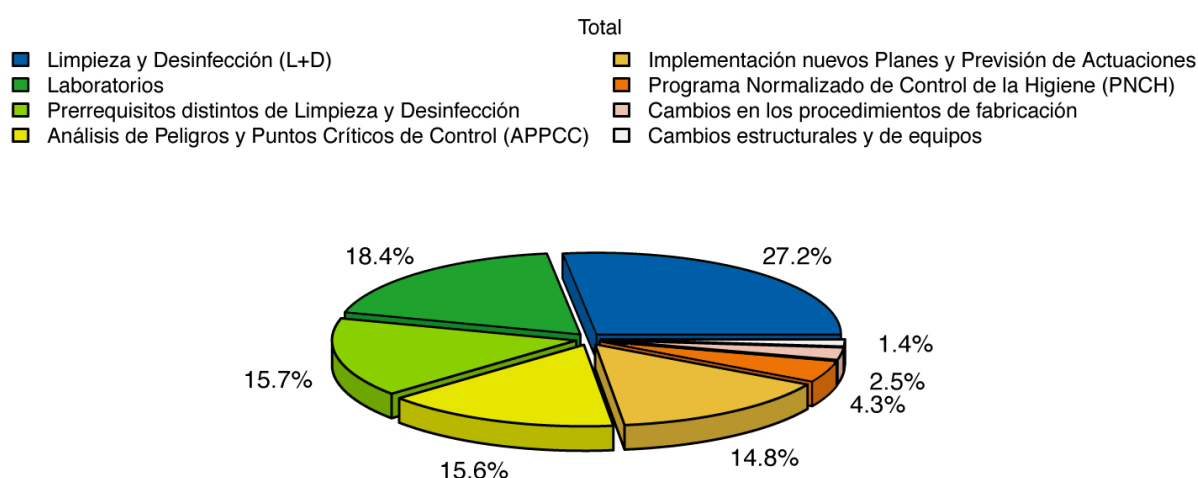


Figura 82. Gráfico general de las medidas de control tomadas en todas las industrias.

Representatividad de cada uno de los 8 grupos de medidas de control tomadas

Las medidas de control tomadas han mejorado el plan de limpieza y desinfección, las técnicas de muestreo y laboratoriales y el plan de formación. Como medidas a potenciar están las estructurales que hacen referencia a esas zonas secas de especial seguridad y las que mejoren la aplicación, vigilancia y verificación del programa normalizado de control de la higiene (PNCH).

## 4.2.6. ESTUDIO ESTADÍSTICO

### 4.2.6.1. Inferenciales

Seguidamente paso a exponer el estudio estadístico que se ha realizado con todos estos datos. Del análisis descriptivo de los datos expuestos hasta el momento y plasmados en los 58 comentarios a pie de gráficos y tablas, se desprenden una serie de evidencias que junto a este estudio nos permitirán obtener las conclusiones finales.

#### 4.2.6.1.1. Objetivos

1. Comparar los valores de recuento de *L. monocytogenes* antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para los grupos de productos con un tamaño de muestra aceptable.
2. Comparar los valores de presencia de *L. monocytogenes* antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para los grupos de productos con un tamaño muestral aceptable.
3. Comparar los valores de presencia de *Listeria* spp. antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para los grupos de productos con un tamaño de muestra aceptable.
4. Comparar los valores de presencia de *L. monocytogenes* antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para las superficies con un tamaño muestral aceptable.
5. Comparar los valores de presencia de *Listeria* spp. antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para las superficies con un tamaño muestral aceptable.

#### 4.2.6.1.2. Inferencia

Para poder contrastar las diferencias antes y después de tomar medidas de control de *Listeria*, se realizaron los siguientes pasos:

**4.2.6.1.2.1. En las variables numéricas** (recuento de *L. monocytogenes* en productos) el primer paso es seleccionar la técnica estadística adecuada. Para ello, se comprobaron los supuestos de la estadística clásica, realizando pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza. Si la variable no es normal y/o no es homogénea, se deberá utilizar técnicas no paramétricas para su análisis ya que estas técnicas tienen en cuenta el incumplimiento de los supuestos de la estadística clásica y son consecuentemente las técnicas adecuadas para su análisis.

**4.2.6.1.2.2. En las variables categóricas** (presencia de *L. monocytogenes* en productos, presencia de *Listeria* spp. en productos, presencia de *L. monocytogenes* en superficies, presencia de *Listeria* spp. en superficies), se utilizaron pruebas no paramétricas de McNemar.

#### **4.2.6.1.3. Resultados**

Inferencia. Comparamos variables relacionadas con la *Listeria* antes y después de tomar medidas de control:

##### **4.2.6.1.3.1. Recuento de *Listeria monocytogenes* en productos antes y después de tomar medidas de control**

La variable recuento de *L. monocytogenes* es una variable numérica y por tanto para seleccionar la técnica estadística adecuada para el primer objetivo, necesitamos conocer si tiene una distribución normal y si es homogénea entre los grupos “antes” (recuento 1) y “después” (recuento 2) de la medida de control. Para ello se realizaron las pruebas de normalidad de Lilliefors, la prueba de Anderson-Darling y la prueba de Shapiro Wilk (Tablas 57 y 58). En todas estas pruebas podemos concluir que la variable recuento *L. monocytogenes*, antes y después de las medidas de control, no siguió una distribución normal.

Asimismo, se realizaron pruebas de homogeneidad de varianza entre los grupos “antes” y “después” de las medidas de control, en particular se utilizó la prueba de Levene, la prueba de Bartlett y la prueba de Fligner-Killeen (Tabla 59). Observamos que la variable recuento de *L. monocytogenes* no presentó homogeneidad de varianza ente ambos grupos.

Debido a estos resultados se analizó la diferencia de medias en el recuento de *L. monocytogenes* entre los grupos “antes” (recuento 1) y “después” (recuento 2) de la medida de control, mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon para todos los productos en conjunto y para cada grupo de productos (Tabla 60). No se detectaron diferencias significativas en el recuento de *L. monocytogenes* antes y después de la manipulación, al analizar todos los productos en conjunto ( $p=0,196$ ), ni para los grupos picado crudos curados ( $p=0,285$ ), loncheados de salazón ( $p=1$ ), salazones ( $p=0,424$ ) y cocidos ( $p=0,77$ ), en particular.



Tabla 57. Pruebas de normalidad para el recuento de *Listeria monocytogenes* antes de la toma de medidas de control de *Listeria* (recuento 1)

Método	Significación
Lilliefors	<0,001
Anderson-Darling	<0,001
Shapiro-Wilk	<0,001

Tabla 58. Pruebas de normalidad para el recuento de *Listeria monocytogenes* después de la toma de medidas de control de *Listeria* (recuento 2)

Método	Significación
Lilliefors	<0,001
Anderson-Darling	<0,001
Shapiro-Wilk	<0,001

Tabla 59. Pruebas de homogeneidad de varianza para el recuento de *Listeria monocytogenes* entre los grupos antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*

Método	Significación
Levene	0,68
Bartlett	0,01
Fligner-Killeen	0,13

Tabla 60. Pruebas de Wilcoxon para muestras relacionadas.

Se comparó la variable recuento antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para todos los productos cárnicos y para cada grupo de productos en particular

Grupo	N	Media antes	SD antes	Media después	SD después	Significación
Todos	102	47,65	268,53	66,23	370,45	0,20
Picado crudos curados	49	97,35	383,23	136,44	528,27	0,29
Loncheados salazones	16	1,25	3,42	1,25	3,42	1
Salazones	14	2,14	4,26	0,714	2,67	0,42
Cocidos	10	1	3,16	2	4,22	0,77

#### 4.2.6.1.3.2. Presencia de *Listeria monocytogenes* en productos antes y después de tomar medidas de control

Para el estudio de la presencia de *L. monocytogenes* antes y después en productos de la toma de medidas de control de *Listeria*, se utilizaron pruebas no paramétricas de McNemar. Se detectaron diferencias significativas en la presencia de *L. monocytogenes* antes y después del manejo de control de *Listeria* al analizar las variables: todos los productos ( $p=0,007$ ), picados crudos curados ( $p=0,0118$ ), salazones ( $p=0,0085$ ) y cocidos ( $p=0,0127$ ). Para todos los productos, el 52,2 % de las muestras que presentaron *L. monocytogenes* pasaron a no presentar *L. monocytogenes* luego de aplicar las medidas de control ( $N=24$ ). Para los productos picados crudos curados, el 44 % de las muestras con *L. monocytogenes* pasaron a no presentarla luego de aplicar las medidas de control ( $N=16$ ). En las salazones y cocidos el número de productos con *L. monocytogenes* que pasaron a no tenerla luego de aplicar las medidas de control, fue muy bajo ( $N=1$  para ambos casos). No se detectaron diferencias para loncheados de salazón ( $p=0,6875$ ).

Tabla 61. Pruebas de McNemar para muestras relacionadas.

Se comparó la variable presencia de *Listeria monocytogenes* antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para todos los productos cárnicos y para cada grupo de productos en particular

Grupo	Antes	Después		Significación
		Ausencia	Presencia	
Todos	Ausencia	56 (87,5 %)	8 (12,5 %)	0,007
	Presencia	24 (52,2 %)	22 (47,8 %)	
Picados crudos curados	Ausencia	12 (75 %)	4 (25 %)	0,0118
	Presencia	16 (44,4 %)	20 (55,6 %)	
Loncheados salazones	Ausencia	13 (86,7 %)	2 (13,3 %)	0,6875
	Presencia	4 (100 %)	0 (0 %)	
Salazones	Ausencia	10 (90,9 %)	1 (9,1 %)	0,0085
	Presencia	2 (100 %)	0 (0 %)	
Cocidos	Ausencia	11 (91,7 %)	1 (8,3 %)	0,0127
	Presencia	1 (100 %)	0 (0 %)	

#### 4.2.6.1.3.3. Presencia de *Listeria* spp. en productos antes y después de tomar medidas de control

Para el estudio de la presencia de *Listeria* spp. en productos antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, se utilizaron pruebas no paramétricas de McNemar (Tabla 62). Se detectaron diferencias significativas en la presencia de *Listeria* spp. antes y después del manejo de control de *Listeria*, para las variables: todos los productos ( $p=0,020$ ), salazones ( $p=0,008$ ) y cocidos ( $p=0,0127$ ). No se detectó efecto sobre los picados crudos curados ( $p=0,189$ ) ni en loncheados de salazón ( $p=0,375$ ). Al considerar todos los productos en conjunto, observamos que el 39 % de las muestras que presentaron *Listeria* spp., luego de aplicar las medidas de control, lograron controlar la bacteria ( $N=23$ ). En las salazones y cocidos el número de muestras que pasó de presencia a ausencia de *Listeria* spp. fue muy bajo ( $N=2$  en ambos casos).

Tabla 62. Prueba de McNemar para muestras relacionadas. Se comparó la variable presencia de *Listeria* spp. antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para todos los productos cárnicos y para cada grupo de productos en particular

Grupo	Antes	Después		Significación
		Ausencia	Presencia	
Todos	Ausencia	45 (83,3 %)	9 (16,7 %)	0,020
	Presencia	23 (39 %)	36 (61 %)	
Picados crudos curados	Ausencia	7 (50 %)	7 (50 %)	0,189
	Presencia	14 (33,3 %)	28 (66,7 %)	
Loncheados salazones	Ausencia	10 (90,9 %)	1 (9,1 %)	0,375
	Presencia	4 (57,1 %)	3 (42,9 %)	
Salazones	Ausencia	10 (90,9 %)	1 (9,1 %)	0,008
	Presencia	2 (100 %)	0 (0 %)	
Cocidos	Ausencia	12 (100 %)	0 (0 %)	0,0127
	Presencia	2 (100 %)	0 (0 %)	

#### 4.2.6.1.3.4. Presencia de *Listeria monocytogenes* en superficies antes y después de tomar medidas de control

Para el estudio de la presencia de *L. monocytogenes* en superficies antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, se utilizaron pruebas no paramétricas de McNemar (Tabla 63). No se detectaron diferencias significativas en ningún grupo de superficies al comparar la presencia de *L. monocytogenes* antes y después de las medidas de control: todos ( $p=0,2716$ ), crudos curados ( $p=0,5234$ ), cocidos ( $p=1$ ), salazones ( $p=0,267$ ), comunes a todas las industrias cárnicas ( $p=0,481$ ). No se pudo calcular para el grupo de loncheados por falta de datos.

Tabla 63. Pruebas de McNemar para muestras relacionadas.

Se comparó la variable presencia de *Listeria monocytogenes* antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para todas las superficies de trabajo y para cada grupo de superficies en particular

Grupo	Antes	Después		Significación
		Ausencia	Presencia	
Todos	Ausencia	104 (82,5 %)	22 (17,5 %)	0,27
	Presencia	31 (63,3 %)	18 (36,7 %)	
Sup1	Ausencia	33 (78,6 %)	9 (21,4 %)	0,52
	Presencia	13 (68,4 %)	6 (31,6 %)	
Sup2	Ausencia	2 (100 %)	0 (0 %)	1
	Presencia	0 (0 %)	1 (100 %)	
Sup3	Ausencia	16 (72,7 %)	6 (27,3 %)	1
	Presencia	6 (85,7 %)	1 (14,3 %)	
Sup4	Ausencia	10 (100 %)	0 (0 %)	-
	Presencia	1 (100 %)	0 (0 %)	
Sup5	Ausencia	43 (86 %)	7 (14 %)	0,48
	Presencia	11 (52,4 %)	10 (47,6 %)	

Sup1: picados crudos curados; Sup2: cocidos; Sup3: salazones;

Sup4: loncheados; Sup5: comunes a todas las industrias

#### 4.2.6.1.3.5. Presencia de *Listeria* spp. en superficies antes y después de tomar medidas de control

Para el estudio de la presencia de *Listeria* spp. en superficies antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, se utilizaron pruebas no paramétricas de McNemar (Tabla 64). Se detectaron diferencias significativas al comparar la presencia de *Listeria* spp. antes y después de las medidas de control, al considerar todas las superficies en su conjunto ( $p=0,0011$ ), y en las superficies del grupo de los crudos curados ( $p=0,00091$ ). Al considerar todos los productos, el 62 % de las muestras que presentaron *Listeria* spp. en una primera muestra fueron revertidas tras aplicar las medidas de manejo ( $N=52$ ). En el grupo de los picados crudos curados, el 68 % de las muestras lograron controlarse tras las medidas de manejo ( $N=23$ ).

Tabla 64. Pruebas de McNemar para muestras relacionadas.

Se comparó la variable presencia de *Listeria* spp. antes y después de la toma de medidas de control de *Listeria*, para todas las superficies de trabajo y para cada grupo de superficies en particular

Grupo	Antes	Después		Significación
		Ausencia	Presencia	
Todos	Ausencia	56 (70,9 %)	23 (29,1 %)	0,01
	Presencia	52 (61,9 %)	32 (38,1 %)	
Sup1	Ausencia	10 (66,7 %)	5 (33,3 %)	<0,01
	Presencia	23 (67,6 %)	11 (32,4 %)	
Sup2	Ausencia	2 (66,7 %)	1 (33,3 %)	1
	Presencia	2 (66,7 %)	1 (33,3 %)	
Sup3	Ausencia	11 (68,8 %)	5 (31,2 %)	0,30
	Presencia	10 (71,4 %)	4 (28,6 %)	
Sup4	Ausencia	8 (100 %)	0 (0 %)	-
	Presencia	1 (100 %)	0 (0 %)	
Sup5	Ausencia	27 (67,5 %)	13 (32,5 %)	0,71
	Presencia	16 (50 %)	16 (50 %)	

Sup1: picados crudos curados; Sup2: cocidos; Sup3: salazones;

Sup4: loncheados; Sup5: comunes a todas las industrias



## Capítulo 5. Conclusiones

---





## Primera

La mejora en el control de *Listeria monocytogenes* es evidente en el conjunto de las industrias. El 52,2 % de las muestras que presentaron *L. monocytogenes* en productos pasaron a no presentarla después de la aplicación de las medidas de control. El 39 % de las muestras que presentaron *Listeria* spp. en productos, tras la aplicación de medidas, lograron eliminar estas bacterias. El 62 % de las muestras de superficies con presencia de *Listeria* spp. en primer muestreo revirtieron la situación después de aplicar el plan de acción acordado. Estos valores tienen distinta importancia según los grupos de productos LPC, pero la evolución positiva que estos establecimientos han tenido es manifiesta.

## Segunda

El progreso en el control de *Listeria monocytogenes* ha llevado aparejados una serie de valores añadidos en el sistema de seguridad alimentaria de las industrias que han tenido influencia no solo en este peligro, sino en todos los peligros biológicos que pueden afectar a los productos que elaboran. Se han revisado e incrementado las garantías de los prerrequisitos de las industrias, particularmente el plan de limpieza y desinfección, el plan de homologación de proveedores, el plan de mantenimiento, el plan de control de la higiene antes, durante y después de las operaciones, el plan de formación, el plan de control de la potabilidad del agua y el plan de control de temperaturas. Seis establecimientos han implantado el PNCH (programa normalizado de control de la higiene) y otros tantos han mejorado su aplicación, vigilancia y verificación.

## Tercera

Se han revisado la totalidad de las técnicas de muestreo y de laboratorio, para dotarlas de mayor sensibilidad, especificidad y capacidad de recuperación, aspecto este último fundamental en el control de *Listeria*. Finalmente, también se ha revisado en profundidad el APPCC (sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico) de todas ellas y en concreto: la descripción

de productos, el establecimiento de los PCC, justificaciones científicotécnicas, estudios de vida útil y actuaciones ante positivos con medidas sobre el producto, investigación de causas, medidas correctivas para restablecer la situación y medidas preventivas para evitar la recurrencia. En definitiva, puede afirmarse que su nivel de riesgo biológico ha descendido.

## Cuarta

Si bien las medidas son efectivas, exigen un seguimiento constante y unos sistemas de seguridad alimentaria (PNCH y APPCC) en permanente y constante revisión para adaptarse a las contingencias que vayan surgiendo. Cuando no es así, surgen los repuntes y se han visto pasos atrás, posiblemente debidos a no mantener las medidas de control. En 7 industrias (20 %) se ha constatado una tendencia insatisfactoria o bien un diente de sierra. Se achaca a falta de respuesta (2 establecimientos no tomaron ninguna medida) o de rigor y constancia en su aplicación. Estos establecimientos continúan en seguimiento.

## Quinta

El porcentaje de productos cárnicos LPC que incumplen la normativa comunitaria por exceder el límite de 100 ufc/g fue muy bajo (2,1 %). Todos pertenecen al grupo de picados crudos curados (4 chorizos y 4 longanizas) por lo que dentro de ese grupo el porcentaje es mayor (6,2 %). No obstante, este resultado presenta un sesgo debido a que un solo establecimiento aporta 6 positivos que superan las 100 ufc/g. Las medidas para garantizar que al final de la vida útil no superarán el límite señalado deben mejorarse. Son todavía poco consistentes a pesar de haberse realizado la caracterización de los productos en cuanto a pH y  $a_w$  en 24 establecimientos (68,5 %) y estudios de vida útil en 22 establecimientos (62,8 %). Se echa en falta en las caracterizaciones un mayor número de muestras para incrementar la representatividad y la homogeneidad de los lotes y en los estudios de vida útil la combinación de varios métodos que les aporten más solidez a alguno de estos trabajos. Han venido utilizando bibliografía científica relacionada, el histórico de resultados, modelos matemáticos predictivos, estudios de durabilidad y estudios de desafío —*challenge test*—.

## Sexta

En el grupo de los productos cárnicos picados crudos curados la presencia de *Listeria* fue importante para *L. monocytogenes* (44,2 %) y *Listeria* spp. (66,5 %). El avance en estas industrias ha sido satisfactorio y un 44 % con presencia de *L. monocytogenes* en productos inicialmente, pasó a no detectarse tras aplicar las medidas de control. En cuanto a *Listeria* spp. los resultados no fueron tan positivos y se mantiene como un peligro potencial a considerar. En las superficies de contacto directo principales en estas industrias (picadora, amasadora y embutidora), resulta difícil eliminarla obteniendo para *L. monocytogenes* (24,9 %) y para *Listeria* spp. (40 %). Con las medidas de control se consiguió no detectar *Listeria* spp. en un 68 % de las superficies que habían resultado positivas y con *L. monocytogenes* las mejoras no fueron significativas. Parece inevitable en este grupo convivir con la presencia de *Listeria* y para su control establecer sucesivas barreras de seguridad. La formulación del producto y los procesos posteriores de fermentación y curado tienen que aportar las garantías, por supuesto, sin abandonar la premisa de partir del nivel de contaminación más bajo posible.

## Séptima

Los resultados obtenidos en los productos cárnicos cocidos han sido bastante satisfactorios en cuanto a *L. monocytogenes* (1,8 %) y *Listeria* spp. (9,6 %). Se constata diferencia significativa entre la fase previa a la aplicación de las medidas y la posterior tanto en cuanto a *L. monocytogenes* como en *Listeria* spp. Se partía de niveles muy bajos y se redujeron todavía más. En este grupo es posible la perseguida ausencia de *Listeria*. Resulta imprescindible un control de seguridad del tratamiento térmico con rango de PCC y un control muy eficaz de la zona de exposición posletal reduciéndola al máximo y, si es factible, eliminándola. Como medida auxiliar quedaría un tratamiento posletal después del envasado para eliminar una potencial y mínima contaminación en esa zona. Se abordaría con una pasterización breve que afecte a la superficie.

## Octava

En los productos cárnicos en salazón, fundamentalmente jamón y lomo ibérico, se han encontrado diferencias significativas para *L. monocytogenes* y *Listeria* spp. desde el momento

previo al posterior a la aplicación de medidas, y los valores obtenidos han sido muy satisfactorios (*L. monocytogenes* —1,7 %— y *Listeria* spp. —2,9 %—) aumentando, aún más, su seguridad. Estos productos sufren unos procesos estandarizados de salado, temperaturas, humedades y tiempo de curación que les deben hacer alcanzar las características bioquímicas previstas en su caracterización y garantizar su seguridad. Capítulo aparte merecen los jamones precoces o de curación corta que suelen presentar valores de  $a_w$  muy próximos o superar el límite de 0,92 que permite el desarrollo de *Listeria*. En este terreno se ubican los escasos positivos detectados.

## Novena

En el grupo de los productos cárnicos LPC loncheados los resultados indican la necesidad de procedimientos y equipos de loncheado que ofrezcan garantías. Las contaminaciones encontradas han sido más importantes en crudos curados con *L. monocytogenes* (32,4 %) y *Listeria* spp. (51,4 %), luego vienen las salazones con *L. monocytogenes* (9,1 %) y *Listeria* spp. (30,6 %) y finalmente los cocidos con *L. monocytogenes* (ausencia) y *Listeria* spp. (16,7 %). En este grupo la mejoría en resultados no ha sido significativa y se ha insistido en los aspectos básicos de su control: plan de limpieza y desinfección de equipos, si es posible automatizado y verificando muy a menudo su eficacia, la formación del personal y las mejoras estructurales dotándose de salas blancas o similares. Es cierto que el (60 %) de estos establecimientos someten al producto posteriormente a tratamiento por altas presiones hidrostáticas (HPP), sin embargo no debe fiarse todo a la eficacia de este tratamiento y partir del mejor nivel posible. Los países importadores entienden este tratamiento para eliminar una contaminación final imperceptible y no como la base de su seguridad.

## Décima

A lo largo de todo el trabajo la formación se revela como elemento fundamental en el control de *Listeria monocytogenes*. Formación en todos los niveles de la industria: responsables, manipuladores en general, manipuladores de zonas de especial vigilancia (encargados de la aplicación, vigilancia o verificación de prerrequisitos, procedimientos del PNCH o de la gestión de los PCC), personal de limpieza y personal de mantenimiento. Se han realizado acciones formativas específicas en 7 industrias (20 %), pero la conclusión es que solo desde el entendimiento, la

comprensión y conociendo el porqué de las acciones encomendadas se consigue cambiar las actitudes e incrementar la implicación.

## Undécima

Los planes de vigilancia, como el que nos ocupa, combinan las tres herramientas que normalmente utiliza el control oficial por separado: la inspección, la auditoría y la toma de muestras. Se aborda el problema desde una perspectiva global que supera las características individuales de cada una de ellas estableciendo sinergias y logrando un efecto de suma. Además el planteamiento inicial de colaboración y propuesta ha sido muy bien aceptado por los operadores que, en numerosos casos, tenían ya o podrían tener en el futuro, expectativas de introducir sus productos en mercados terceros con exigencias especiales sobre el control de *Listeria monocytogenes* y, no solo en estos, porque otros operadores han comprobado el peligro que supone para sus industrias no tener bien resuelto este aspecto, también en el ámbito de los intercambios intracomunitarios, los nacionales e incluso los locales. Identificaron rápidamente estas posibilidades y ha supuesto un trabajo en el que los inspectores hemos visto una actitud diferente con unos resultados satisfactorios. Por lo expuesto, se propone el sistema de planes de vigilancia para abordar distintos problemas puntuales de tipos de productos o industrias como forma de trabajo que conduzca a una mejora de la seguridad alimentaria.



## **Chapter 5. Conclusions**

---





## **First**

The improvement of the control of *Listeria monocytogenes* is evident in the group of industries. The 52,2 % of the product samples which were presented by *L. monocytogenes* were not submitted after applying the corrective measurements. The 39 % of the product samples presented by *Listeria* spp., after applying these measurements managed to eliminate this bacterium. The 62 % of the samples of surfaces which presented *Listeria* spp. within the first sampling reversed the situation after having applied the agreed action plan. Each of these values are different important according to the group of RTE products, however the effectiveness within these establishments is manifest.

## **Second**

The progress of the control of *Listeria monocytogenes* has led to a series of added values in the food safety system of the industries which have had influence not only in this threat, yet in all of the biological risks that may affect the products which are manufactured. The guarantees on the prerequisites of the industries have been revised and increased, particularly the cleaning and disinfection plan, the suppliers approval plan, the maintenance plan, the hygiene control plan before, during and after the operations, the training plan, the control of the potability of the water plan and the temperature control plan. Six establishments have implemented the SSOP (sanitization standard operative program) and just as many others have improved their application, monitoring and verification.

## **Third**

All of the sampling and laboratory techniques have been revised, in order to give them greater sensitivity, specificity, and resilience, the last point being considered essential in the control of *Listeria*. Finally, the HACCP (hazard analysis critical control points system) of all of them have been revised and particularly: the description of products, the establishment of the PCC, scientific and technical justifications, shelf life studies and proceedings after positives with measures on the

products, research of causes, corrective measures to restore the situation and preventive measures to avoid recurrence. In short, it is assured that its level of biological risk has descended.

## Fourth

Despite the measurements are effective, they require constant monitoring and a food safety system (SSOP and HACCP) in permanent and constant review in order to adapt to the contingencies that arise. When it is not this way, the rebounds and steps back arise. In 7 industries (20 %) have seen an irregular or unsatisfactory trend. The failure to respond is blamed (two establishments took no action) or of rigor and consistency in its application. These establishments continue to follow-up.

## Fifth

The percentage of meat products RTE that had failed to abide by community rules for exceeding the limit of 100 cfu/g was low (2,1 %). All belong to the group of chopped raw-cured (4 chorizo sausages and 4 longaniza sausages) so that within this group the percentage is higher (6,2 %). However, this result is skewed because only one establishment provides 6 positives >100 cfu/g. Measures to ensure that at the end of shelf life they do not exceed the limit of 100 cfu/g must be improved. They are still inconsistent, despite having made the characterization of the products in the pH and  $a_w$  24 establishments (68,5 %) and shelf life studies 22 establishments (62,8 %). A larger number of samples are lacking in the characterization to increase the representativeness and the uniformity of each batch. In the studies of shelf life the combination of several methods to give them more strength to some of these jobs. Scientific literature related, records of the results, predictive mathematical models, durability studies and challenge tests have all been used.

## Sixth

In the group of the chopped raw-cured meat products the presence of *Listeria* was significant in *L. monocytogenes* (44,2 %) and in *Listeria* spp. (66,5 %). The advance in these industries has been satisfactory and a (44 %) which initially presented *L. monocytogenes* went on to not presenting *L. monocytogenes* after applying the corrective measurements. Regarding the *Listeria* spp. the results

were not as positive and is currently considered a potential risk to take into account. In the main surfaces, which come into direct contact in these industries (the meat mincers, the mixers, the stuffer) are difficult to remove all remains leaving behind *L. monocytogenes* (24,9 %) and *Listeria* spp. (40 %). With the applied control measures the 68 % of *Listeria* spp. was not detected which were tested positive and in *L. monocytogenes* these improvements were not significant. The presence of *Listeria* in this field seems to be inevitable and in order to correct it, efficient safety barriers must be applied. The formulation of the product and the subsequent processes of fermentation and curing must provide the assurance and guarantee necessary, by all means, taking into account the premise of parting from the lowest contamination level possible.

## Seventh

The results obtained in the cooked meat products have been fairly satisfactory in regard to *L. monocytogenes* (1,8 %) and *Listeria* spp. (9,6 %). A significant difference between the phase prior to the implementation of measures, and after the implementation of measures was found both in *L. monocytogenes* as well as in *Listeria* spp. It initiated from very low levels and were further reduced. The pursue within this field absence of *Listeria* is possible. It is essential to undertake a security control of the heat treatment with the range of CCP and a very efficient control of the poslethal exposure zone reducing it to the maximum, while feasible, eliminating it. An ancillary measure would be a poslethal treatment after the packaging in order to eliminate a potential and minimum pollution in this area. This would be addressed with a brief pasteurization that affects the surface.

## Eighth

In the salted meat products, fundamentally iberian pork loin and ham significant differences have been found both in regard to *L. monocytogenes* as to *Listeria* spp. in products from the time prior to the subsequent to the implementation of measures where the values obtained have been very successful (*L. monocytogenes* —1,7%— and *Listeria* spp. —2,9%—), this way increasing its assurance. These products undergo standard salting processes, temperatures, humidities and healing time where they must reach the biochemical characteristics laid down in its characterization and ensure their safety. The premature ham or short cured process, often presents values of  $a_w$  close

to or which exceed the limit of 0,92 that enables the development of *Listeria*. The scarce positives in this group are detected in this type of products.

## Ninth

In reference to the group of RTE sliced meat products, results indicate the need for slicing equipment and procedures which offer guarantees. The contamination found were shown to be more significant in raw-cured with *L. monocytogenes* (32,4 %) and *Listeria* spp. (51,4 %), followed by the salted products with *L. monocytogenes* (9,1 %) and *Listeria* spp. (30,6 %) and finally the cooked products which present *L. monocytogenes* (absence) and *Listeria* spp. (16,7 %). In this group the improvement of the results has not been significant and has emphasized in basic aspects of control: cleaning and disinfection equipment plan, if possible, for it to be automated its effectiveness must be verified as often as possible, staff training and the structural improvements with white rooms or similar. Keeping in mind that (60 %) of these establishments subsequently subject the product into high pressure processing (HPP) treatments, however they should not rely on any of the efficacy of this treatment and to start from the best possible level. Importing countries understand this treatment to eliminate an imperceptible final pollution and not as the basis for their safety.

## Tenth

Throughout the work the training is revealed to be a fundamental element of the control of *Listeria monocytogenes*. Training at all levels of the industry: responsible, manipulators in general, special surveillance area manipulators (those who are responsible for the implementation, monitoring or verification of prerequisites, SSOP procedures or CCP management), cleaning staff and maintenance personnel. Specialized training has been applied in 7 industries (20 %), but the overall rating is that the only way to change attitudes and increase involvement is through comprehension, which means understanding and knowing the reasons for the mandated operations.

## Eleven

Monitoring plans such as the one that we are dealing with, combine the three tools that normally use the official control separately: inspection, audit and sampling. Addresses the problem from a global perspective that exceeds the individual characteristics of each and every one of them establishing synergies and achieving an effect of sum. In addition, the initial approach of collaboration and proposal has been very well accepted by the operators which, in many cases, they already had or could have in the future, expectations to introduce their products into third markets with special requirements on the control of *Listeria monocytogenes* and, not only in these, because other operators have checked what the risk of not having resolved this aspect, poses to their industries, as well as level of intra-community trade, national and even local trade. These possibilities were quickly identified and have led to work in which the inspectors have seen a different attitude with satisfactory results. For the foregoing reasons, the monitoring plan system is proposed in order to address specific problems in different types of products or industries as a form of work that will lead to improvements in food security.



## **Capítulo 6. Referencias bibliográficas**

---





- AECOSAN (Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición). 2015. *Directrices para el muestreo oficial de líneas de producción de alimentos listos para el consumo que pueden plantear riesgo de Listeria monocytogenes y actuaciones consiguientes*. Rev. 0. Acuerdo ratificado por la Comisión Institucional el 25 de noviembre de 2015, pp. 1-10. Anexo: *Directrices sobre el muestreo de equipos y zonas de procesado de alimentos para la detección de Listeria monocytogenes*. LRUE para la *Listeria monocytogenes*. Versión 3 – 20/08/2012, pp. 11-27. Disponible en: [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad\\_alimentaria/detalle/riesgos\\_bilógicos.htm](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/detalle/riesgos_bilógicos.htm).
- AESA (Agencia Española de Seguridad Alimentaria). 2005. *Opinión del Comité científico de AESA sobre una cuestión presentada por la Dirección Ejecutiva, en relación con la aplicación de altas presiones en carne y productos cárnicos* (Ref. AESA-2003-007). Grupo de Trabajo: Ordóñez Pereda, J.A., Zurera Cosano, G., Bosch Navarro, A., Otero Carballeira, A. y Guamis López, B. Revista del Comité Científico de la AESA. Nº 1, pp. 36-71.
- AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición). 2010. *Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los biofilms y su repercusión en la seguridad alimentaria* (Ref. AESAN-2010-002). Grupo de Trabajo: Domínguez Rodríguez, L., Badiola Díez, J.J., Cepeda Sáez, A., Más Barón, A., Rodríguez Ferri, E., Zurera Cosano, G. y Téllez Peña, S. Revista del Comité Científico de la AESAN, nº 12, pp. 37-61.
- AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición). 2011. *Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los estudios de vida útil para Listeria monocytogenes en determinados productos alimenticios* (Ref. AESAN-2011-003). Grupo de Trabajo: Martínez López, A., Cepeda Sáez, A., Herrera Martache, A. y Alonso Andicoberry, C. Revista del Comité Científico nº 14, pp. 43-63.
- ANSES y EURL Lm (French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety and European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*). 2012. *Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of Listeria monocytogenes* (Version 3 - 20/08/2012). French, 15 pp. Disponible en: [https://www.google.es/search?q=Guidelines+on+sampling+the+food+processing+area+and+equipment+for+the+detection+of+Listeria+monocytogenes&ie=utf-8&oe=utf-8&gws\\_rd=cr&ei=DgQeV4W8GsOsabbJoKAF](https://www.google.es/search?q=Guidelines+on+sampling+the+food+processing+area+and+equipment+for+the+detection+of+Listeria+monocytogenes&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=DgQeV4W8GsOsabbJoKAF).
- AUPSA. 2017. *Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar productos cárnicos procesados de España a República Panamá*. Autoridad Panameña de seguridad de los alimentos. Gobierno de la República de Panamá. Disponible en: <http://200.46.196.152/Plapara exportar ntas/Forms/Plantas.aspx>.
- Aureli, P., Fiorucci, G.C., Caroli, D., Marchiaro, G., Novara, O., Leone, L. y Salmaso, S. 2000. *An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by Listeria monocytogenes*. New England Journal of Medicine, 342, pp. 1236-1241. doi:10.1056/NEJM200004273421702.
- Aymerich, T., Bover Cid, S. y Garriga, M. 2014. *Fitxa 10. Programa de control de Listeria monocytogenes*. In: Manual de seguretat alimentària del sector carni porcí: com gestionar els perills (INNOVACC). Associació Catalana d'Innovació del sector carni porcí; Actualització: juliol de 2014, 82 pp. Disponible en: <http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/ca/dir3507/doc36228.html>.
- BESA (Boletín Epidemiológico Semanal de Aragón). 2016. Temas de Salud Pública. Listeriosis en Aragón. Años 2005-2016. Semana 50/2016 (del 12/12/2016 al 18/12/2016).
- Bille, J. 1990. *Epidemiology of human listeriosis in Europe, with special reference to the Swiss outbreak*. Miller, A. J., Smith, J. L., y Somkuti, G. A. Foodborne Listeriosis. Elsevier, Amsterdam.
- Bille, J., Blanc, D.S., Schmid, H., Boubaker, K., Baumgartner, A., Siegrist, H.H., Tritten, M.L., Lienhard, R., Berner, D., Anderau, R., Treboux, M., Ducommun, J.M., Malinverni, R., Genné, D., Erard, P. y Waespi, U. 2006. *Outbreak of human listeriosis*

- associated with tomme cheese in northwest Switzerland. *Euro Surveill*, 11(6):pii633. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=633>.
- Bover Cid, S. y Garriga M. 2012. *¿Cómo abordar la gestión de la seguridad alimentaria a través de los estudios de vida útil de acuerdo con el Reglamento (CE) 2073/2005 de criterios microbiológicos?* Eurocarne, 211, pp. 66-75.
- Bover, S. y Garriga, M. 2014. *Investigación sobre las condiciones que determinan el crecimiento y la supervivencia de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo*. Informe final de la actividad. Revisión: 5. Ref. 0404-I3020 (25-11-2014). IRTA. Editado por la Genelalitat de Catalunya.
- Bula, C.J., Bille, J. y Glauser, M.P. 1995. *An epidemic of food-borne listeriosis in western Switzerland: description of 57 cases involving adults*. *Clinical Infectious Diseases*, 20(1), pp. 66-72. <https://doi.org/10.1093/clinids/20.1.66>.
- Calderón, J. L. 2010. *Artículo de Revisión ÁCIDO HIPOCLOROSO (HOCl) “Una nueva alternativa en antisepsia y desinfección desarrollada en Colombia”*. *Laboratorio Actual*, Año 26, n° 42 (septbre), pp. 27-31. Disponible en: [https://www.google.es/search?q=%C3%A1cido+hipocloroso+y+desinfecci%C3%B3n+de+superficies+art%C3%ADculos+&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b&gfe\\_rd=cr&ei=RkhWWaztLLeE3gOb8oKICQ](https://www.google.es/search?q=%C3%A1cido+hipocloroso+y+desinfecci%C3%B3n+de+superficies+art%C3%ADculos+&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b&gfe_rd=cr&ei=RkhWWaztLLeE3gOb8oKICQ).
- Carpentier, B., y Cerf, O. 2011. *Persistence of Listeria monocytogenes in food industry equipment and premises*. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), pp. 1-8. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.005.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2011. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2012. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Imported Frescolina Marte Brand Ricotta Salata Cheese*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-09-12/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2013. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Crave Brothers Farmstead Cheeses*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-07-13/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2014a. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Commercially Produced, Prepackaged Caramel Apples Made from Bidart Bros. Apples*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/caramel-apples-12-14/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2014b. *Wholesome Soy Products, Inc. Sprouts and Investigation of Human Listeriosis Cases*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/bean-sprouts-11-14/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2014c. *Oasis Brands, Inc. Cheese Recalls and Investigation of Human Listeriosis Cases*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-10-14/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2014d. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Roos Foods Dairy Products*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-02-14/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2015a. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Soft Cheeses Distributed by Karoun Dairies, Inc.* Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/soft-cheeses-09-15/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2015b. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Blue Bell Creameries Products*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/ice-cream-03-15/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2016a. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Frozen Vegetables*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/frozen-vegetables-05-16/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2016b. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Raw Milk Produced by Miller's Organic Farm in Pennsylvania*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/raw-milk-03-16/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2016c. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Packaged Salads Produced at Springfield, Ohio Dole Processing Facility*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/bagged-salads-01-16/index.html>.

- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Soft Raw Milk Cheese Made by Vulto Creamery*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/soft-cheese-03-17/index.html>.
- CEXGAN (Comercio exterior ganadero). 2016. *Lista de establecimientos españoles elaboradores de productos alimenticios de origen animal autorizados para exportar a Nicaragua. 25 de agosto de 2016*. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/modulos/listadosestab.aspx?pais=0&prd=999>.
- CEXGAN (Comercio exterior ganadero). 2017. *Procedimiento de autorización de establecimientos para la exportación de carnes y productos cárnicos de porcino y carne fresca de vacuno destinados al consumo humano*. Información adicional. Disponible en: [http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/inform\\_adicional.htm](http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/inform_adicional.htm).
- CEXGAN-MAPAMA (Comercio exterior ganadero-Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017a. *Listado de establecimientos españoles autorizados para exportar de España a Argentina*. Microsoft Excel 97-2003 Worksheet (273 KB). Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- CEXGAN-MAPAMA (Comercio exterior ganadero-Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017b. *Lista de establecimientos españoles elaboradores de productos alimenticios de origen animal autorizados para exportar a Costa Rica*. 1 de marzo de 2017. Disponible en: <https://servicio.magrama.gob.es/cexgan/publico/publico/Buscador.aspx>.
- CEXGAN-MAPAMA. (Comercio exterior ganadero-Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017c. *Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar carne fresca y preparados de carne de porcino, bovino, ovino y caprino a República Dominicana*. 10/03/2017. Disponible en: <https://servicio.magrama.gob.es/cexgan/publico/publico/Buscador.aspx>.
- CEXGAN-MAPAMA. (Comercio exterior ganadero-Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017d. *Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar carne y productos cárnicos de porcino a Indonesia*. 27 de mayo de 2016. Disponible en: <https://servicio.magrama.gob.es/cexgan/publico/publico/Buscador.aspx>.
- CFR (code of federal regulations) 2012. Title 9: Animals and animal products. *cha I: Animal and plant health inspection service, department of agriculture. subcha d: Exportation and importation of animals (including poultry) and animal products. part 94: Rinderpest, foot-and-mouth disease, newcastle disease, highly pathogenic avian influenza, african swine fever, classical swine fever, swine vesicular...and bovine spongiform encephalopathy: prohibited and restricted importations. .94.17 - Dry-cured pork products from regions where foot-and-mouth disease, rinderpest, african swine fever, classical swine fever, or swine vesicular disease exists*. Disponible en: <https://www.gpo.gov/fdsys/browse/collectionCfr.action?collectionCode=CFR&searchPath=Title+9%2FChapter+III&oldPath=Title+9&isCollapsed=true&selectedYearFrom=2017&ycord=221>.
- CFR (Code of Federal Regulations). 2015. Title 9: Animals and animal products. *ch III: Food safety and inspection service, Department of Agriculture. subch E: Regulatory requirements under the federal meat inspection act and the poultry products inspection. Part 430 - Requirements for specific classes of product. Sections: 430.1 – Definitions. 430.4 - Control of Listeria monocytogenes in post-lethality exposed ready-to-eat products*. Disponible en: <https://www.gpo.gov/fdsys/browse/collectionCfr.action?collectionCode=CFR&searchPath=Title+9%2FChapter+III&oldPath=Title+9&isCollapsed=true&selectedYearFrom=2017&ycord=221>.
- CNE (Centro Nacional de Epidemiología). 2011. *Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2009*. Madrid. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE\\_INFORME\\_ANUAL\\_2009.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE_INFORME_ANUAL_2009.pdf).
- CNE (Centro Nacional de Epidemiología). 2012. *Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2010. Instituto de Salud Carlos III*. Madrid. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE\\_INFORME\\_ANUAL\\_\\_2010.pdf.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE_INFORME_ANUAL__2010.pdf.pdf).

- CNE. (Centro Nacional de Epidemiología). 2013a. Instituto de Salud Carlos III. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. *Protocolos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica: protocolo de vigilancia de listeriosis*. pp. 425-433. Madrid. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/protocolos.shtml>.
- CNE (Centro Nacional de Epidemiología). 2013b. *Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2011*. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE\\_INFORME\\_ANUAL\\_2011.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE_INFORME_ANUAL_2011.pdf).
- CNE (Centro Nacional de Epidemiología). 2014. *Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2012*. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE\\_INFORME\\_ANUAL\\_2012.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE_INFORME_ANUAL_2012.pdf).
- CNE (Centro Nacional de Epidemiología). 2015. *Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2013*. Madrid. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/Renave\\_informe\\_anual\\_2013.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/Renave_informe_anual_2013.pdf).
- CNE (Centro Nacional de Epidemiología). 2016. *Resultados de la Vigilancia Epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2014*. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE\\_INFORME\\_ANUAL\\_2014.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-procedimientos/RENAVE_INFORME_ANUAL_2014.pdf).
- CNRL. 2011. *Rapport des activités 2006-2010*. Pasteur/Institute de Veille Sanitaire. Disponible en: <http://www.pasteur.fr/ip/easyte/pasterur/fr/sante/centres-nationaux-de-reference-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-ccoms-des-listeria/actualites-rapports/index>.
- Codex Alimentarius. 2007. *Directrices sobre la aplicación de principios generales de higiene de los alimentos para el control de Listeria monocytogenes en los alimentos*. Codex Alimentarius. CAC/GL 61, 30pp.
- Comisión Europea 2013. DOCUMENTO DE ORIENTACIÓN sobre los estudios de vida útil para *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, en virtud del Reglamento (CE) nº 2073/2005, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. SANCO/11510/2013. (POOL/G4/2013/11510/11510-EN.doc). [...] (2013) XXX proyecto, 39 pp. Disponible en: [https://www.google.es/search?q=SANCO/11510/2013+&ie=utf-8&oe=utf-8&gws\\_rd=cr&ei=tgkVV7yTO4SVaKmjrAM](https://www.google.es/search?q=SANCO/11510/2013+&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=tgkVV7yTO4SVaKmjrAM) (consultado 29 abril 2016).
- Conly, J.M. y Johnston, B.L. 2008. *Listeria: A persistent food-borne pathogen* (adult infectious disease notes). Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 19(5), pp. 327-328.
- Cossart P, y Toledo-Arana A. 2008. *Listeria monocytogenes*, a unique model in infection biology: an overview. Microbes and Infection. Vol. 10(9), pp. 1041-1950. doi:10.1016/j.micinf.2008.07.043.
- Cumming, M., Kludt, P., Matyas, B., DeMaria, A., Stiles, T., Han, L., Gilchrist, M., Neves, P., Fitzgibbons, E. y Condon, S. 2008. *Outbreak of Listeria monocytogenes Infections Associated With Pasteurized Milk From a Local Dairy--Massachusetts, 2007*. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), 57(40), pp. 1097-1100. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5740a1.htm>.
- Dawson, S. J., Evans, M. R., Willby, D., Bardwell, J., Chamberlain, N., y Lewis, D. A. 2006. *Listeria* outbreak associated with sandwich consumption from a hospital retail shop, United Kingdom. *Euro Surveillance*, 11. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=632>.
- De Ancos, B., Muñoz, M., Gómez, R., Sánchez-Moreno, C. y Cano, M.P. 2006. *Nuevos Sistemas Emergentes de Higienización en el Procesado Mínimo de Alimentos Vegetales*. I Simposio Iberoamericano de Vegetales Frescos Cortados - IV Cong. Nac. Sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. San Pedro, SP Brazil. Abril. Trabajo en extenso.

- De Castro, V., Escudero, J.M., Rodríguez, J.L., Muniozguren, N., Uribarri, J., Saez, D., y Vazquez, J. 2012. *Listeriosis outbreak caused by Latin-style fresh cheese*, Bizkaia, Spain. August 2012. Euro Surveill, 17(42):pii=20298. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20298>.
- De Valk H. 2000. *Outbreak of listeriosis linked to the consumption of pork tongue in jelly in France*. Euro Surveill, 4(9):pii=1650. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=1650>.
- Decisión nº 1082/2013/UE del parlamento europeo y del consejo de 22 de octubre de 2013 *sobre las amenazas transfronterizas graves para la salud y por la que se deroga la Decisión nº 2119/98/CE*. 5.11.2013. Diario Oficial de la Unión Europea, (DO L 293 de 5.11.2013, p.1).
- Decisión nº 880 de 9 de diciembre de 2011 de la Comisión de la Unión Aduanera: *Reglamento Técnico sobre Seguridad de los Alimentos (entra en vigor el 1 de julio de 2013 a excepción de las disposiciones relativas a la carne y los productos cárnicos, leche y productos lácteos, pescado y productos de la pesca, como consecuencia de las Decisiones Colegiales CEE Nº 129 de 11 de junio de 2013 y nº 147, de 25 de junio de 2013)*. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos05/publico/legislacion.aspx?proc=8&pais=357&excl=0>.
- Den Bakker, H.C., Bowen, B. M., Rodríguez-Rivera, L.D. y Wiedmann, M., 2012. *FSL J1-208, a virulent uncommon phylogenetic lineage IV Listeria monocytogenes strain with a small chromosome size and putative virulence plasmid carrying internalin-like genes*. Appl. Environ. Microbiol. 78(6), pp. 1876-89. doi:10.1128/AEM.06969-11.
- DHHS/CFSAN/FSIS/CDC. 2003. *Quantitative Assessment of Relative Risk to Public Health from Foodborne Listeria monocytogenes Among Selected Categories of Ready-to-Eat Foods*. The U.S. Department of Health and Human Service, Food and Drug Administration's Center for Food Safety and Applied Nutrition (DHHS/FDA/CFSAN) conducted this risk assessment in collaboration with the U.S. Department of Agriculture's Food Safety and Inspection Service (USDA/FSIS) and in consultation with the DHHS Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Available online: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/riskassessment/ucm183966.htm>.
- Domínguez Carmona, M., 2007. *Listeriosis. Una zoonosis emergente de transmisión alimentaria*. Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia. Monografía XXXI: Aspectos higiénicos de los alimentos microbiológicamente seguros. Capítulo 7, pp. 181-218. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/issue/view/402>.
- Drevets, D.A., y Bronze, M.S. 2008. *Listeria monocytogenes: epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasión*. FEMS Immunology Medical Microbiology, 53(2), pp. 151-165. doi:10.1111/j.1574-695X.2008.00404.x.
- ECFF (The European Chilled Food Federation). 2006. *Recommendations for the production of prepackaged chilled food*. December. 2nd ed. Disponible en: [http://www.ecff.net/images/ECFF\\_Recommendations\\_2nd\\_ed\\_18\\_12\\_06.pdf](http://www.ecff.net/images/ECFF_Recommendations_2nd_ed_18_12_06.pdf).
- EFSA (European Food Safety Authority). 2007a. *The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006* The EFSA Journal, 130, p. 3-352. doi:10.2903/j.efsa.2007.130r.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2007b. *Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Commission on Request for updating the former SCVPH opinion on Listeria monocytogenes risk related to ready-to-eat foods and scientific advice on different levels of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods and the related risk for human illness*. EFSA Journal. 599, pp. 1-42. Available online: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/599>.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2009. *The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007*. The EFSA Journal, 223, p. 320. DOI: 10.2903/j.efsa.2009.223r. Available on line: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2009.223r/full>.
- EFSA (European Food Safety Authority), ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2013a. *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011*. EFSA Journal. 11(4):3129, pp. 250. doi:10.2903/j.efsa.2013.3129. Available online: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal).



- EFSA (European Food Safety Authority). 2013b. *Analysis of the baseline survey on the prevalence of Listeria monocytogenes in certain ready-to-eat (RTE) foods in the EU, 2010-2011 Part A: Listeria monocytogenes prevalence estimates*. EFSA Journal.11 (6), 3241, 75 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3241. Disponible: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3241>.
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2014. *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012*. EFSA Journal. 12(2):3547, pp. 312. doi:10,2903/j.efsa,2014,3547. Available online: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal).
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2015a. *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2014*. EFSA Journal. 13(12):4329, pp. 190. doi:10.2903/j.efsa.2015.4329. Available on line: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4329>.
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2015b. *The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013*. EFSA Journal. 13(1):3991, pp. 162. doi:10,2903/j.efsa,2015,3991. Available on line: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal).
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2016. *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015*. EFSA Journal 2016;14(12):4634, 231 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4634. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4634>.
- Elika. 2006. *Listeria monocytogenes*. Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria. p. 1-13. Alaba. Disponible en: <http://www.elika.net/datos/riesgos/Archivo21/Listeria.pdf>.
- Euzéby, J.P. 2010. *Dictionnaire de Bacteriologie Vétérinaire*. Disponible en: [www.bacterio.cict.fr/bacdico/11/listeriaceae.html](http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/11/listeriaceae.html).
- Euzéby, J.P. 2011. *List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) bacterio net*. Disponible en: <http://www.bacterio.cict.fr/>.
- Exportación a Japón. 2016. *Información específica. Procedimiento de autorización de establecimientos para la exportación de carne y productos cárnicos de porcino destinados al consumo humano*. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Actualizado 31 de marzo de 2016. Disponible en: [http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/inform\\_adicional.htm](http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/inform_adicional.htm).
- FAO/OMS. 2004. *Risk assessment of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods: interpretative summary*. Microbiological risk assessment series, no. 4. Rome, Italy.
- Farber, J.M., y Peterkin, P.I. 2000. *Listeria monocytogenes*. Lund, B.M., Baird-Parker, T.C. y Gould, G.W (eds) The microbiological safety of food. Vol. 2, pp. 1178-1232. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publisher.
- Farber, J.M., Pagotto, F., y Scherf, C. 2007. *Incidence and behavior of Listeria monocytogenes in meat products*. Ryser, E.T. and Marh, E.H. (ed), *Listeria, listeriosis, and food safety* 3th Edition. CRC Press, pp. 503-570. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.
- Fernández-Salguero, J., Gómez, R. y Carmona, M.A. 1994. *Water activity of Spanish intermediate-moisture meat products*. Journal of Meat Science, 38(2), p. 341-346. doi: 10.1016/0309-1740(94)90122-8.
- Fernández-Salguero, J. 1995. *Conservación de productos cárnicos por aplicación de factores combinados: productos españoles de humedad intermedia y alta*. Revista española de ciencia y tecnología de los alimentos, 35(3), p. 233-246.
- Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald, K.L., Brondum, J., Hayes, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.H., Audurier, A., Broome, C.V. y Reingold, A.L. 1985. *Pasteurized Milk as a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis*. The New England Journal of Medicine, 312, pp. 404-407. doi:10.1056/NEJM198502143120704.
- Foegeding, P.M., Thomas, A.B., Pilkington, D.H. y Klaenhammer, T.R. (1992). *Enhanced control of Listeria monocytogenes by in situ produced pediocin during dry fermented sausage production*. Applied and Environmental Microbiology, 58(3), pp. 884-890.

- Frank, J.F. 2001. *Microbial attachment to food and food contact surfaces*. Advances in food and nutrition research. 43, pp. 320-370.
- Freitag N.E., Port G.C. y Miner M.D. 2009. *Listeria monocytogenes-from saprophyte to intracellular pathogen*. Nat Rev Microbiol. 7(9), pp. 623-8.
- Fretz, R., Sagel, U., Ruppitsch, W., Pietzka, A.T., Stöger, A., Huhulescu, S., Heuberger, S., Pichler, J., Much, P., Pfaff, G., Stark, K., Prager, R., Flieger, A., Feenstra, O. y Allerberger, F. 2010. *Listeriosis outbreak caused by acid curd cheese "Quargel", Austria and Germany 2009*. (Rapid communications). Euro Surveill, 15(5):pii=19477. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19477>.
- Frye, C. y Donnelly, C.W. 2005. *Comprehensive survey of pasteurized fluid milk produced in the United States reveals a low prevalence of Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, 68(5), pp. 973-979. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-68.5.973>.
- FSA (Food Standards Agency). 2003. *FSA Salt Model. UK Salt initiatives*. London: FSA, p.1-11. Available on line <http://www.food.gov.uk/multimedia/spreadsheets/saltmodel.xls>.
- FSAI (Food Safety Authority of Ireland). 2014a. *Guidance Note No. 18: Validation of Product Shelf-life (Revision 2)*. Food Safety Authority of Ireland, 48 pp. Disponible en: [https://www.google.es/search?q=Guidance+Note+No.+18:+Validation+of+Product+Shelf-life+%28Revision+2%29&ie=utf-8&oe=utf-8&gws\\_rd=cr&ei=eyMfV-PXFcl2UOfpv6gB](https://www.google.es/search?q=Guidance+Note+No.+18:+Validation+of+Product+Shelf-life+%28Revision+2%29&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=eyMfV-PXFcl2UOfpv6gB).
- FSAI (Food Safety Authority of Ireland). 2014b. *Guidance Note No.27: Guidance Note on the Enforcement of Commission Regulation (EC) N° 2073/2005 on Microbiological Criteria for Foodstuffs*. Food Safety Authority of Ireland, 104 pp. Disponible en: [https://www.google.es/search?q=Guidance+Note+No.27:+Guidance+Note+on+the+Enforcement+of+Commission+Regulation+%28EC%29+No+2073/2005+on+Microbiological+Criteria+for+Foodstuffs&ie=utf-8&oe=utf-8&gws\\_rd=cr&ei=KiQfV4KWOMm3aeGuOgN](https://www.google.es/search?q=Guidance+Note+No.27:+Guidance+Note+on+the+Enforcement+of+Commission+Regulation+%28EC%29+No+2073/2005+on+Microbiological+Criteria+for+Foodstuffs&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=KiQfV4KWOMm3aeGuOgN).
- FSIS (Food Safety and Inspection Service) –USDA (United States Department of Agriculture). 1999. *Listeria guidelines for industry*. Disponible en: <https://www.fsis.usda.gov/Oa/topics/lmguide.htm>.
- FSIS (Food Safety and Inspection Service). 2010. *FSIS Comparative Risk Assessment for Listeria monocytogenes in Ready-to-eat Meat and Poultry Deli Meats Report*. Prepared by: DHHS, USDA/DSIS and FDA/CFSAN, 60 pp. Disponible en: [https://www.google.es/search?q=Comparative+Risk+Assessment+for+Listeria+monocytogenes+in+Ready-to-eat+Meat+and+Poultry+Deli+Meats&ie=utf-8&oe=utf-8&gws\\_rd=cr&ei=JDYfV4zNDYK1Udv4p9gO](https://www.google.es/search?q=Comparative+Risk+Assessment+for+Listeria+monocytogenes+in+Ready-to-eat+Meat+and+Poultry+Deli+Meats&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=JDYfV4zNDYK1Udv4p9gO).
- FSIS (Food Safety and Inspection Service). 2014a. *Directive 10240.4. Verification Activities for the Listeria monocytogenes (Lm) Regulation and the Ready-to-Eat (RTE) Sampling Program*. Revision 3. USDA Food Safety and Inspection Service sent this bulletin at 01/10/2014. Washington, DC. Available on line: <https://content.govdelivery.com/accounts/USFSIS/bulletins/9df36a>.
- FSIS (Food Safety and Inspection Service). 2014b. *FSIS Compliance Guideline: Controlling Listeria monocytogenes in Post-lethality Exposed Ready-to-Eat Meat and Poultry Products*. Food Service and Inspection Service. U.S. Department of Agriculture, 143 pp. Disponible en: <http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/regulatory-compliance/compliance-guides-index#Listeria>.
- FSIS (Food Safety and Inspection Service). 2015. *Best Practices Guidance for Controlling Listeria monocytogenes (Lm) in Retail Delicatessens*. En español. June, 20 pp. Disponible en: <http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/regulatory-compliance/compliance-guides-index#Listeria>.
- FSIS (Food Safety and Inspection Service). 2017. *Directive 5000.1. Verifying an establishment's food safety system*. Revision 5. USDA Food Safety and Inspection Service 4/4/2017. Washington, DC. Available on line: <https://usdasearch.usda.gov/search?affiliate=fsis&query=Directive+5000.1>.
- Gallager, D.L., Ebel, E.D. y Kause, J.R. 2003. *FSIS Risk Assessment for Listeria monocytogenes in Deli Meats*. Food Safety and Inspection Service, U.S. Department of Agriculture. 96 pp. Disponible en: <http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/97-013F/ListeriaReport.pdf>.

- Gandhi, M., y Chikindas, M. L. 2007. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *International Journal of Food Microbiology*, 113, 1-15. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/6785280\\_Listeria\\_A\\_foodborne\\_pathogen\\_that\\_knows\\_how\\_to\\_survive](https://www.researchgate.net/publication/6785280_Listeria_A_foodborne_pathogen_that_knows_how_to_survive).
- Garrrity, G.M., Lilburn, T.G., Cole, J.R., Harrison, S.H., Euzéby, J., y Tindall, B.J. 2007. *Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea*. Release 7,7 Michigan State University Board of Trustees. doi:10.1601 /TOBA7,7.
- Gaulin, C., Ramsay, D. y Bekal, S. 2012. *Widespread listeriosis outbreak attributable to pasteurized cheese, which led to extensive cross-contamination affecting cheese retailers, Quebec, Canada, 2008*. *Journal of Food Protection*, 75(1), pp. 71-78. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-11-236.
- Gaze, J. E. 2006. *Pasteurization: a food industry practical guide* (2nd Ed). Guideline 51. Publisher Campden BRI, 69 pp.
- Giovannini, A., Migliorati, G., Prencipe, V., Calderone, D., Zuccolo, C. y Cozzolino, P. 2007. *Risk assessment for listeriosis in consumers of Parma and San Daniele hams*. *Food Control*. Vol. 18(7), pp. 789–799. doi:10.1016/j.foodcont.2006.03.014.
- Gombas, D.E., Chen, Y., Clavero, R.S., y Scott, V.N. 2003. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to- eat foods. *Journal of Food Protection*. 66(4), pp. 559-569.
- Gómez, D., Ariño, A., Carramiñana, J.J., Rota, C. y Yangüela, J. 2012a. *Comparison of sampling procedures for recovery of Listeria monocytogenes from stainless steel food contact surfaces*. *Journal of Food Protection*, Vol. 75(6), pp. 1077-1082. doi:http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-421.
- Gómez, D., Ariño, A., Carramiñana, J.J., Rota, C. y Yangüela, J. 2012b. *Sponge versus mini-roller for the surface microbiological control of Listeria monocytogenes, total aerobic mesophiles and Enterobacteriaceae in the meat industry*. *Food Control*. Vol. 27(1), pp. 242–247. doi:10.1016/j.foodcont.2012.03.031.
- Gómez, D., Azón, E., Marco, N., Carramiñana, J.J., Rota, C., Ariño, A. y Yangüela, J. 2014. *Antimicrobial resistance of Listeria monocytogenes and Listeria innocua from meat products and meat-processing environment*. *Food Microbiology*. Vol. 42, pp. 61–65. doi:0.1016/j.fm.2014.02.017.
- Gómez, D., Iguácel, L.P., Rota, M.C., Carramiñana, J.J., Ariño, A. y Yangüela, J. 2015. *Occurrence of Listeria monocytogenes in Ready-to-Eat Meat Products and Meat Processing Plants in Spain*. *Foods*. 4(3), pp. 271-282. doi:10.3390/foods4030271.
- Gottlieb, S.L., Newbern, E.C., Griffin, P.M., Graves, L.G., Hoekstra, R.M., Baker, N.L., Hunter, S.B., Holt, K.G., Ramsey, F., Levine, M.H.P., Johnson, G., Schoonmaker-Bopp, D., Reddy, V., Kornstein, L., Gerwel, M., Nsubuga, J., Edwards, L., Stonecipher, S., Hurd, S., Austin, D., Jefferson, M.A., Young, S.D., Hise, K., Chernak, E.D. y Sobel, J. 2006. *Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Turkey Deli Meat and Subsequent Changes in US Regulatory Policy*. *Clinical Infectious Diseases*, 42(1), pp. 29–36. doi.org/10.1086/498113.
- Gould, L.M., Mungai, E. y Behravesh, C.B. 2014. *Outbreaks attributed to cheese: differences between outbreaks caused by unpasteurized and pasteurized dairy products, United States, 1998-2011*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(7), p.545-551. doi:10.1089/fpd.2013.1650.
- Goulet, V., Jacquet, C., Vaillant, V., Rebière, I., Mouret, E., Lorente, C., Maillot, E., Stäiner, F. y Rocourt, J. 1995. *Listeriosis from consumption of raw milk cheese* (Letters to the Editor). *The Lancet*, 345(8964), p. 1581-1582. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)91135-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)91135-9).
- Goulet, V., Martin, P., y Jacquet, C. 2002. *Cluster of listeriosis cases in France*. *Euro Surveillance*, 6. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=1931>.
- Graves, L. M., Helsel, L. O., Steigerwalt, A. G., Morey, R. E., Daneshvar, M. I., Roof, S. E., Orsi, R. H., Fortes, E. D., Milillo, S. R., den Bakker, H. C., Wiedmann, M., Swaminathan, b., y Sauders, B. D. 2010. *Listeria marthii sp. nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, pp. 1280-1288.



- Graves, L.M., Hunter, S.B., Ong, A.R., Schoonmaker-Bopp, D., Hise, K., Kornstein, L., DeWitt, W.E., Hayes, P.S., Dunne, E., Mead, P. y Swaminathan, B. 2005. *Microbiological aspects of the investigation that traced the 1998 outbreak of listeriosis in the United States to contaminated hot dogs and establishment of molecular subtyping-based surveillance for Listeria monocytogenes in the PulseNet network*. Journal of Clinical Microbiology, 43(5), pp. 2350-2355. doi:10.1128/JCM.43.5.2350-2355.2005.
- Guillet, C., Join-Lambert, O., Le Monnier, A., Leclercq, A., Mechař, Mamzer-Bruneel, M-F., Bielecka, M.K. Scortti, M., Disson, O., Berche, P., Vazquez-Boland, J., Lortholary, O., y Lecuit, M. 2010. *Human listeriosis caused by Listeria ivanovii*. Emerging Infectious Diseases. Vol. 16, pp. 136-138.
- Gunvig, A., Blom-Hanssen, J., Jacobsen, T., Hansen, F. y Borggaard, C. 2007. *A predictive model for growth of L. monocytogenes in meat products with seven different hurdles variables*. 5<sup>th</sup> International Conference, In Predictive Modeling in Food. September 16-19. Athens- Grece, pp. 197-200.
- Health Canada. 2011. Policy on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Bureau of Microbial Hazards. Food Directorate. Health Products and Food Branch. Disponible en: [http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/legislation/pol/policy\\_listeria\\_monocytogenes\\_2011-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/legislation/pol/policy_listeria_monocytogenes_2011-eng.php).
- Heinz, G. y Hautzinger, P. 2007. *Meat Processing Technology For Small- To Medium- Scale Producers*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Regional Office for Asia and the Pacific. Bangkok, Thailand. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/010/ai407e/ai407e00.htm>.
- Henning, W.R., y Cutter, C. 2001. Controlling *Listeria monocytogenes* in small and very small meat and poultry plants. USDA-FSIS. Disponible en: <http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/home>.
- Herrera, A., y Yangüela, J. 1991. *Estado actual de los estudios acerca de la difusión y transmisión de Listeria monocytogenes por los alimentos*. Rodero, A., y Jordano, R. Libro homenaje al profesor Doctor D. Rodrigo Pozo Lora. Servicio Publicaciones Universidad de Córdoba, Córdoba, España.
- Ho, J.L., Shands, K.N., Friedland, G., Eckind, P. y Fraser D.W. 1986. *An outbreak of type 4b L. monocytogenes infection involving patients from eight Boston hospitals*. Archives of internal medicine, 146(3), pp. 520-524. doi:10.1001/archinte.1986.00360150134016.
- Hoelzer, K., Oliver, H.F., Kohl, L.R., Hollingsworth, J., Wells, M.T. y Wiedmann, M. 2012. *Structured Expert Elicitation About Listeria monocytogenes Cross-Contamination in the Environment of Retail Deli Operations in the United States*. Risk Analysis. Vol.32 (7), pp. 1139-1156. doi:10.1111/j.1539-6924.2011.01729.x.
- Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, M.T. y Monfort, J.M. 1995. *Inhibition of Listeria in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic Lactobacillus sake, CTC494*. Journal of Applied Bacteriology, Vol. 79(3), pp. 322-330. doi:10.1111/j.1365-2672.1995.tb03144.x.
- Hwang, C.A., Porto-Fett, A.C.S., Juneja, V.K., Ingham. S.C., Ingham. B.H. y Luchansky. J.B. 2009. *Modeling the survival of Escherichia coli O157:H7, Listeria monocytogenes, and Salmonella Typhimurium during fermentation, drying, and storage of soudjouk-style fermented sausage*. International Journal of Food Microbiology. Vol. 129, pp. 244-252. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.003.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) 2002. *Listeria monocytogenes en salchichas cocidas (frankfurters)*. Microorganismos de los alimentos 7. Análisis microbiológico en la gestión de la seguridad alimentaria. ICMSF. Acibia, S.A., Zaragoza, España.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2006. *A simplified guide to understanding and using food safety objectives and performance objectives*, 20 pp. Disponible en: [https://www.google.es/search?q=ICMSF,+2002&ie=utf-8&oe=utf-8&gws\\_rd=cr&ei=0Jn-VordBoO7Uar-jaAG](https://www.google.es/search?q=ICMSF,+2002&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=0Jn-VordBoO7Uar-jaAG).
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2011. *Applications and Use of Criteria and Other Tests* (Swanson, K.M.J.). Microorganisms in food 8. Use of data for assessing process control and product acceptance. Nova York, Dordrecht, Heildelberg, Londres: Springer US, pp. 63-73. doi:10.1007/978-1-4419-9374-8\_7.

- IJSEM Online 2017. *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature 2017*. Disponible en: <http://www.bacterio.net/listeria.html>.
- INNOVAC. 2013. Fitxa 10. *Programa de control de Listeria monocytogenes*. Associació Catalana d'Innovació del sector carni porcí, 4 pp. Disponible en: <http://www.gencat.cat/salut/acsa/html/ca/dir3507/doc36228.html>.
- INVIMA (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos). 2017. *Sistema de información sanitaria para la importación y exportación de productos agrícolas y pecuarios (SISPAP)*. Enlace a establecimientos autorizados para exportar a Colombia. Disponible en: [https://afrodita.ica.gov.co/VW\\_CONSULTAS\\_PROD\\_PAIS/ShowVW\\_CONSULTAS\\_PROD\\_PAISTable.aspx](https://afrodita.ica.gov.co/VW_CONSULTAS_PROD_PAIS/ShowVW_CONSULTAS_PROD_PAISTable.aspx).
- Jacquet, Ch., Catimel, B., Brosch, R., Buchrieser, C., Dehaumont, P., Goulet, V., Lepoutre, A., Veit, P. y Rocourt, J. 1995. *Investigation related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992*. Appl Environ Microbiol.: 61, 2242 – 2246.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., y Golden, D.A. 2005. *Listeriosis de origen alimentario*. Microbiología Moderna de los Alimentos. Ed. Acribia, S.A., Zaragoza, España.
- Jemmí, T., y Stephan, R. 2006. *Listeria monocytogenes: food-borne pathogen and hygiene indicator*. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties, 25, pp. 571-580.
- Jinneman, K.C., Wekell, M.M., y Eklund, M.W. 2007. *Incidence and behavior of Listeria monocytogenes in fish and seafood*. Ryser, E.T., y Marh, E.H. *Listeria, listeriosis, and food safety* 3th Edition. CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.
- Jofré, A. y Garriga, M. 2011. *¿Cuál es la problemática de Listeria monocytogenes en la industria cárnica?* Revista de la Asociación de Industrias de la Carne de España (AICE), junio. pp. 36-42.
- Junttila, J.R., Niemelä, S.I., y Him, J. 1988. *Minimum growth temperatures of Listeria monocytogenes and non-hemolytic Listeria*. Journal of Applied Bacteriology, 65(4), pp. 321-327.
- Koutsoumanis, K.P. y Angelidis, A.S. 2007. *Probabilistic Modeling Approach for Evaluating the Compliance of Ready-To-Eat Foods with New European Union Safety Criteria for Listeria monocytogenes*. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 73(15), pp. 4996-5004. doi:10.1128/AEM.00245-07.
- Koutsoumanis, K.P. y Sofos, J.N. 2005. *Effect of inoculum size on the combined temperature, pH and  $a_w$  limits for growth of Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology, Vol. 104(1), pp. 83-91. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.01.010.
- Kuenne, C., Voget, S., Pischmarov, J., Oehm, S., Goesmann, A., Daniel, R., Hain, T. y Chakraborty T. 2010. *Comparative analysis of plasmids in the genus Listeria*. PloS One 5(9). Pii:e12511. doi:10.1371/journal.pone.0012511.
- Kuhn, M., Scortti, M., y Vázquez-Boland, José A. 2008. *Pathogenesis*. Edited by Dongyou Liu. Handbook of *Listeria monocytogenes*. CRC Press, pp. 97-136. Print ISBN: 978-1-4200-5140-7. eBook ISBN: 978-1-4200-5141-4. doi:10.1201/9781420051414.ch4.
- Lado, B.H. y Yousef, A.E. 2007. *Characteristics of Listeria monocytogenes important to food processors*. In *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. Third Edition. Edited by Ryser, E.T. and Marth, E.H. Boca Raton. CRC Press, pp. 157-213.
- Lambertz, S.T., Nilsson, C., Brådenmark, A., Sylvén, S., Johansson, A., Jansson, L.M. y Lindblad, M. 2012. *Prevalence and level of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods in Sweden*. International Journal of Food Microbiology. Vol. 160(1), pp. 24–31. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.09.010.
- Larson, A. E., Johnson, E. A., y Nelson, J. H. 1999. *Survival of Listeria monocytogenes in commercial cheese brines*. Journal of Dairy Science, 82, 1860–1868.
- Leclercq, A., Clermont, D., Bizet, C., Grimont, P. A. D., Le Flèche-Matéos, A., Roche, S. M., Buchrieser, C., Cadet-Daniel, V., Le Monnier, A., Lecuit, M., y Allerberger, F. 2010. *Listeria rocourtiae sp. nov.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 60, pp. 2210-2214.
- Leclercq, A., Chenal-Francisque, V., Dieye, H., Cantinelli, T., Drali, R., Brisse, S., y Lecuit, M. 2011. *Characterization of the novel Listeria monocytogenes PCR serogrouping profile IVb-v1*. International Journal of Food Microbiology, 147, pp. 74-77.

- Leibniz-Institute DSMZ, 2017. *List of prokaryotic names validly published updated june 2017*. Disponible en: <https://www.dsmz.de/support/bacterial-nomenclature-up-to-date-downloads.html>.
- Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Fannin, S.L., Kleks, A. y Broome, C.V. 1988. *Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese*. The New England Journal of Medicine, 319(13), pp. 823-828. doi:10.1056/NEJM198809293191303.
- Liu, D. 2006. *Identification, subtyping and virulence determination of Listeria monocytogenes, and important foodborne pathogen*. Journal of Medical Microbiology, 55(Pt 6), pp. 645-659.
- López, V., Suárez, M., Chico-Calero, I., Navas, J. y Martínez-Suárez, J.V. 2006. *Listeria monocytogenes en alimentos: ¿son todos los aislamientos igual de virulentos?* Revista Argentina de Microbiología 38: 224-234. Miller, A. J. 1992. Combined water activity and solute effects on growth and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of Food Protection*, 55, 414-418.
- López, V., Villatoro, D., Ortiz, S., López, P., Navas, J., Dávila, J.C., Martínez-Suárez, J.V. 2008. *Molecular tracking of Listeria monocytogenes in an Iberian pig abattoir and processing plant*. Meat Science. Vol. 78(1), pp. 130-134. doi:10.1016/j.meatsci.2007.05.002.
- Luber, P., Crerar, S., Dufour, C., Farber, J., Datta, A. y Tood, E.C.D. 2011. *Controlling Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods: Working towards global scientific consensus and harmonization - Recommendations for improved prevention and control*. Food Control. Vol. 22(9), pp. 1535-1549. doi:10.1016/j.foodcont.2011.01.008.
- Ludwig, W., Schleifer, K. H., y Whitman, W. B. 2009. *Family III. Listeriaceae fam. nov.* De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H., y Whitman, W. B. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2nd Ed, Vol. 3 (The Firmicutes), Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York.
- Lyytikäinen, O., Autio, T., Maijala, R., Ruutu, P., Honkanen-Buzalski, T., Miettinen, M., Hatakka, M., Mikkola, J., Anttila, V.J., Johansson, T., Rantala, L., Aalto, T., Korkeala, H. y Siitonen, A. 2000. *An outbreak of Listeria monocytogenes serotype 3a infections from butter in Finland*. The Journal of Infectious Diseases, 181(5), pp. 1838-1841. <https://doi.org/10.1086/315453>.
- Lyytikäinen, O., Nakari, U.M., Lukinmaa, S., Kela, E., Nguyen Tran Minh, N. y Siitonen, A. 2006. *Surveillance of listeriosis in Finland during 1995-2004*. Euro Surveill, 11(6):pii=630. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=630>.
- MacDonald, P.D., Whitwam, R.E., Boggs, J.D., MacCormack, J.N., Anderson, K.L., Reardon, J.W., Saah, J.R., Graves, L.M., Hunter, S.B. y Sobel, J. 2005. *Outbreak of listeriosis among Mexican immigrants as a result of consumption of illicitly produced Mexican-style cheese*. Clinical Infectious Diseases, 40(5), pp. 677-682. doi.org/10.1086/427803.
- Makino, S.I., Kawamoto, K., Takeshi, K., Okada, Y., Yamasaki, M., Yamamoto, S. y Igimi, S. 2005. *An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan during 2001*. International Journal of Food Microbiology, 104(2), pp. 189-196. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.02.009>.
- Malley, T.J., Butts, J. y Wiedmann, M. 2015. *Seek and destroy process: Listeria monocytogenes process controls in the ready-to-eat meat and poultry industry*. Journal of Food Protection, 78(2), pp. 436-445doi:10.4315/0362-028X.JFP-13-507
- MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento). 2017. *Listas de Estabelecimentos Estrangeiros Habilitados à Exportação para o Brasil*. Disponible en: [http://sigsif.agricultura.gov.br/sigsif\\_cons/ap\\_exportador\\_hab\\_pais\\_rep\\_net?p\\_relatorio=prod\\_hab\\_exp\\_pais.rdf&p\\_id\\_pais=82&p\\_id\\_area=1&p\\_id\\_produto=&p\\_serial=140780231&p\\_id\\_pais=82&p\\_id\\_area=1&p\\_id\\_produto=191&p\\_serial=977577225&p\\_id\\_pais=&p\\_id\\_area=1&p\\_id\\_produto=25&p\\_serial=977551617&p\\_id\\_pais=82&p\\_id\\_area=1&p\\_id\\_produto=25&p\\_serial=977572498](http://sigsif.agricultura.gov.br/sigsif_cons/ap_exportador_hab_pais_rep_net?p_relatorio=prod_hab_exp_pais.rdf&p_id_pais=82&p_id_area=1&p_id_produto=&p_serial=140780231&p_id_pais=82&p_id_area=1&p_id_produto=191&p_serial=977577225&p_id_pais=&p_id_area=1&p_id_produto=25&p_serial=977551617&p_id_pais=82&p_id_area=1&p_id_produto=25&p_serial=977572498).
- MAPAMA. 2013. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. *Lista de establecimientos cárnicos españoles elaboradores de productos cárnicos terminados autorizados para la exportación a la Unión Aduanera*. 10 de diciembre de 2013. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.

- MAPAMA. 2016a. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *Lista de establecimientos españoles autorizados por el QIA de la República de Corea para la exportación de carne y productos cárnicos porcinos*. 7 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2016b. *Lista de mataderos de porcino autorizados por las autoridades sanitarias de Malasia*. 20 diciembre de 2016. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2016c. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar carne fresca de ciervo a Hong Kong*. 17 de mayo de 2016. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017a. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar carnes y/o productos cárnicos de porcino a los Estados Unidos*. 30 de enero de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017b. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *Lista de establecimientos españoles autorizados por la Canadian Food Inspection Agency (CFIA) para exportar carne y productos cárnicos de porcino a Canadá*. 27 de abril de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017c. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *Lista 131 de establecimientos españoles autorizados para exportar carnes y/o productos cárnicos de porcino a Japón*. 17 de abril de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017d. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar carnes frescas (porcino, ave) a la República de Sudáfrica*. 17 de marzo de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017e. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. Subdirección General de Acuerdos Sanitarios y Control en Frontera. *Listado de Establecimientos Autorizados para la exportación productos porcinos a China*. 27 de abril de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017f. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar carnes y/o productos cárnicos de porcino a Singapur*. 28 de abril de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017g. *Lista de establecimientos autorizados para la exportación de carne y productos cárnicos de porcino a Filipinas* (list of establishments approved for exporting pork meat and pork meat products to the Philippines). 5 de abril de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017h. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. *Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar carne fresca de porcino, productos cárnicos de porcino y productos cárnicos de ave (enlatado y esterilizado) a Taiwán*. 7 de junio de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.

- MAPAMA. 2017i. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria (DGSPA). *Approved list of Spanish meat FBOs (food business operators) for export to Vietnam*. Updated: january 19, 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA. 2017j. Sistema de información de consulta de plantas autorizadas. *Listado de establecimientos autorizados de carne y productos cárnicos de porcino para México*. Consulta general y consulta específica. 20 de junio de 2017. Disponible en: <https://sistemasssl.senasica.gob.mx/PlantaAcreditada/>.
- MAPAMA. 2017k. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. Subdirección General de Acuerdos Sanitarios y Control en Frontera. *Lista de establecimientos españoles autorizados para exportar carne fresca de bovino, ovino y caprino al Estado de Israel*. 28 de marzo de 2017. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- MAPAMA-SFDA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente - Saudi Food & Drug Authority). 2016. *Kingdom of Saudi Arabia. Approved establishments by the Saudi Food and Drug Authority for the export of bovine, ovine and caprine meat and meat products to KSA from the Kingdom of Spain*. 18 de abril de 2016. Disponible en: <http://cexgan.magrama.es/Modulos/ListadosEstab.aspx?pais=0&prd=999>.
- Martín, B., Perich, A., Gómez, D., Yangüela, J., Rodríguez, A., Garriga, M. y Aymerich, T. 2014. *Diversity and distribution of Listeria monocytogenes in meat processing plants*. Food Microbiology. Vol. 44, pp. 119–127. doi:10.1016/j.fm.2014.05.014.
- Martins, E. A., y Leal, P. M. 2011. *Listeria monocytogenes in ready-to-eat, sliced, cooked ham and salami products, marketed in the city of São Paulo, Brazil: Occurrence, quantification, and serotyping*. Food Control, 22, pp. 297–302.
- McLauchlin, J., Hall, S.M., Velani, S.K. y Gilbert, R.J. 1991. *Human listeriosis and paté: a possible association*. British Medical Journal, 303(6805), pp. 773–775. <https://doi.org/10.1136/bmj.303.6805.773>.
- McMeekin, T.A., Presser, K.A., Ratkowsky, D., Ross, T., Salte, M. y Tienungoon, S. 2000. *Quantifying the hurdle concept by modelling the bacterial growth/no growth interface*. International Journal of Food Microbiology, Vol. 55(1), pp. 93–98. doi:10.1016/S0168-1605(00)00182-3.
- Mejlholm, O y Dalgaard, P. 2009. *Development and validation of an extensive growth and growth boundary model for Listeria monocytogenes in lightly preserved and ready-to-eat shrimp*. Journal of Food Protection, Vol. 72(10), pp. 2132–2143.
- Mejlholm, O., Gunvig, A., Borggaard, C., Blom-Hanssen, J., Mellefont, L., Ross, T., Leroi, F., Else, T., Visser, D. y Dalgaard P. 2010. *Predicting growth rates and growth boundary of Listeria monocytogenes - An international validation study with focus on processed and ready-to-eat meat and seafood*. International Journal of Food Microbiology Vol. 141(3), pp. 137–150. doi: [10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.026](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.026).
- Meloni, D. 2015. *Presence of Listeria monocytogenes in Mediterranean-Style Dry Fermented Sausages*. Foods. Vol. 4(1), pp. 34–50. doi:10.3390/foods4010034.
- Mercasa. 2016. *Alimentación en España 2016. Producción, Industria, Distribución, Consumo*. pp. 25–30 y pp. 438–444. Disponible en: [http://www.mercasa-ediciones.es/alimentacion\\_2016/index2.html](http://www.mercasa-ediciones.es/alimentacion_2016/index2.html).
- Miller, A. J. 1992. *Combined water activity and solute effects on growth and survival of Listeria monocytogenes Scott A*. Journal of Food Protection, 55, 414–418.
- Moreno-Enríquez, R.I., García-Galaz, A., Acedo-Félix, E., González-Ríos, H., Call, J.E., Luchansky, J.E. y Díaz-Cinco, M.E. 2007. *Prevalence, Types, and Geographical Distribution of Listeria monocytogenes from a Survey of Retail Queso Fresco and Associated Cheese Processing Plants and Dairy Farms in Sonora, Mexico*. Journal of Food Protection, 70(11), p. 2596–2601.
- MSSSI (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad). 2015. *Nota informativa sobre criterios microbiológicos en la exportación de productos cárnicos a Japón*. Subdirección General de Sanidad Exterior. Febrero 2015. Disponible en: [http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/docs/criterios\\_microbiolog\\_febrero2015.pdf](http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/docs/criterios_microbiolog_febrero2015.pdf).



- Nahuelquín, Y. 2008. *Aplicación de una combinación de bacteriocinas bioencapsuladas, como higienizante de superficies de acero inoxidable*. Tesis Lic. Ing. En Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias, pp. 1-59.
- NAMI (North American Meat Institute). 2016. *Meat Curing and Sodium Nitrite*. Disponible en: <https://www.meatinstitute.org/index.php?display=GeneralSearch&action=AddSearchTermAction&searchstring=Meat+Curin>.
- Nolla-Salas, J., Almela M, Gasser, I., Latorre, C., Salvadó, M., Coll P. 2002. *Spontaneous Listeria monocytogenes peritonitis: a population-based study of 13 cases collected in Spain*. Am J Gastroenterol. 97(6), pp. 1507-11.
- Norton, D. M., y Braden, C. R. 2007. Foodborne listeriosis. Ryser, E. T., y Marth, E. H. *Listeria, listeriosis, and food safety*. 3th Edition. CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.
- Olsen, S.J., Patrick, M., Hunter, S.B., Reddy, V., Kornstein, L., MacKenzie, W.R., Lane, K., Bidol, S., Stoltman, G.A., Frye, D.M., Lee, I., Hurd, S., Jones, T.F., LaPorte, T.N., Dewitt, W., Graves, L., Wiedmann, M., Schoonmaker-Bopp, D.J., Huang, A.J., Vincent, C., Bugenhagen, A., Corby, J., Carloni, E.R., Holcomb, M.E., Woron, R.F., Zansky, S.M., Dowdle, G., Smith, F., Ahrabi-Fard, S., Ong, A.R., Tucker, N., Hynes, N.H. y Mead, P. 2005. *Multistate Outbreak of Listeria monocytogenes Infection Linked to Delicatessen Turkey Meat*. Clinical Infectious Diseases, 40(7), pp. 962-967. doi.org/10.1086/428575.
- Orden SSI/445/2015. 2015. *Orden SSI/445/2015, de 9 de marzo, por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 2210/1995, de 28 de diciembre, por el que se crea la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, relativos a la lista de enfermedades de declaración obligatoria, modalidades de declaración y enfermedades endémicas de ámbito regional*.
- Ortiz, S., López, V., Martínez-Suarez, J.V. 2014. *Control of Listeria monocytogenes contamination in an Iberian pork processing plant and selection of benzalkonium chloride-resistant strains*. Food Microbiology, Vol. 39, pp. 81-88. doi:10.1016/j.fm.2013.11.007.
- Ortiz Jareño, M.S. 2016. *Diversidad genética y persistencia ambiental de Listeria Monocytogenes en dos plantas de procesado de carne de cerdo ibérico: influencia de la resistencia a desinfectantes de amonio cuaternario*. Tesis doctoral. Facultad Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid, pp.191. Disponible en: [eprints.ucm.es/38371/1/T37495.pdf](http://eprints.ucm.es/38371/1/T37495.pdf).
- Parrilla Valero, F. y Vaqué Rafart. L. 2014. *Estudio de incidencia de listeriosis en España*. Gaceta Sanitaria. 28(1), pp. 74-76. doi:10.1016/j.gaceta.2013.03.004.
- Perl, P. 2000. "Listeria fear forces recall of hot dogs". The New York Times. Washington Post, March 26. Disponible en: <http://www.nytimes.com/2000/03/26/us/listeria-fear-forces-recall-of-hot-dogs.html?mcubz=0>.
- PNCH. 2010. *Documento de directrices para la elaboración, aplicación y mantenimiento del programa normalizado de control regular de la higiene (PNCH)*. Disponible en: [http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/exp\\_Operadores.htm](http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/exp_Operadores.htm).
- Portnoy, D.A. 2007. A 20-year perspective on *Listeria monocytogenes* pathogenesis. Editors: Howard Goldfine, Hao Shen. *Listeria monocytogenes: pathogenesis and host response*. Springer Science, pp. 1-12.
- R. 851/2004. REGLAMENTO (CE) N° 851/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y Del Consejo de 21 de abril de 2004 *por el que se crea un Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades*. DO L 142 de 30.4.2004, p. 1/11. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/search.html?lang=es&text=Regulaci%C3%B3n+EC+N%C2%BA+851%2F2004&qid=1497030156653&type=quick&scope=EURLEX&locale=es>.
- R. 2073/2005. REGLAMENTO (CE) N° 2073/2005 DE LA COMISIÓN de 15 de noviembre de 2005 *relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios*. (Texto pertinente a efectos del EEE).
- Raede, J. 2015. FSIS. *Listeria Guidance and Best Practices in Produce Facilities*. Food Safety Magazine, Feb/Mar. pp 58-63. Disponible en: <http://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/februarymarch-2015/listeria-guidance-best-practices-in-produce-facilities/>.
- Ray, B., y Bhunia, A.K. 2014. *Foodborne bacterial infections: Listeria monocytogenes*. In: Fundamental Food Microbiology, 5th Edition, pp. 344-350. CRC Press (Taylor and Francis group), Boca Raton, FL.

- Real Decreto 2210/1995, de 28 de diciembre, *por el que se crea la red nacional de vigilancia epidemiológica*. Ministerio de Sanidad y Consumo. «BOE» núm. 21, de 24 de enero de 1996. Referencia: BOE-A-1996-1502. Última modificación: 17 de marzo de 2015. <http://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-1996-1502>
- Real Decreto 993/2014. 2014. Real Decreto 993/2014, de 28 de noviembre, *por el que se establece el procedimiento y los requisitos de la certificación veterinaria oficial para la exportación*. Ministerio de la Presidencia «BOE» núm. 315, de 30 de diciembre de 2014 Referencia: BOE-A-2014-13621. TEXTO CONSOLIDADO Última modificación: 27 de junio de 2015.
- Reij, M.W. y Den Aantrekker, E.D. 2004. *Recontamination as source of pathogens in processed foods*. International Journal of Food Microbiology. Feb 15;91(1), pp. 1-11.
- Riedo, F.X., Pinner, R.W., Tosca, M.L., Cartter, M.L., Graves, L.M., Reeves, M.W., Weaver, R.E., Plikaytis, B.D. y Broome, C.V. 1994. *A point-source foodborne listeriosis outbreak: documented incubation period and possible mild illness*. The Journal of Infectious Diseases, 170(3), pp. 693–696. <https://doi.org/10.1093/infdis/170.3.693>.
- Rocourt, J., Hogue, A., Toyofuku, H., Jacquet, C., Schlundt, J., 2001. *Listeria and listeriosis: risk assessment as a new tool to unravel a multifaceted problem*. Am J Infect Control, 29(4), pp. 225-227.
- Rocourt, J. y Buchrieser, C. 2007. *The genus Listeria and Listeria monocytogenes: phylogeny position*. Ryser, E. T., y Marth, E. H. *Listeria, listeriosis and food safety*. 3th Edition. CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.
- RSI. 2005. Reglamento sanitario internacional. Tercera edición. Organización Mundial de la salud. Ginebra. 2016. Disponible en: <http://www.who.int/ihr/publications/9789241580496/es/>.
- SAG-MAPAMA. 2017. *Nómina de establecimientos de la Unión Europea habilitados para exportar sus productos a Chile por el SAG o por la Autoridad Sanitaria competente del país de origen, para exportar sus productos a Chile*. No obstante, los productos deberán dar cumplimiento a las exigencias sanitarias específicas al momento de su internación al país. 16 de junio de 2017. Disponible en: <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/importaciones-0/115/registros>.
- Salamina, G., Donne, E.D., Niccolini, A., Poda, G., Cesaroni, D., Bucci, M., Fini, R., Maldin, M., Schuchat, A., Swaminathan, B., Bibb, W., Rocourt, J. y Binkin, N. 1996. *A foodborne outbreak of gastroenteritis involving Listeria monocytogenes*. Epidemiology and Infection, 117(3), pp. 429-436. <https://doi.org/10.1017/S0950268800059082>.
- Sánchez Artola, B. y Palencia Herrejón, E. 2010. *Infecciones por Listeria*. Medicine, Vol. 10(50), pp. 3373-80. doi:10.1016/S0304-5412(10)70045-7.
- Schlech, W.F., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. y Broome, C.V. 1983. *Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food*. The New England Journal of Medicine, 308(4), pp. 203-206. doi:10.1056/NEJM198301273080407.
- Schöbitz, R., González, C., Villarreal, K., Horzella, M., Nahuelquin, Y. y Fuentes, R. 2014. *A biocontroller to eliminate Listeria monocytogenes from the food processing environment*. Food Control, 36(1), pp. 217-223. doi:10.1016/j.foodcont.2013.08.017.
- Seeliger, H. y Jones, D. 1986. “Genus Listeria”. *Bergey’s Manual of systematic Bacteriology*. Vol II. Williams &Wilkins. Baltimore. EE. UU.
- SGSE (Subdirección General de Sanidad Exterior). 2012. *Programa de verificación microbiológica oficial en líneas de producción de alimentos listos para el consumo (RTE) (toma de muestras en producto, FCS y NFC)*. Disponible en: [http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/docs/Programa\\_RTE.pdf](http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/sanidadExterior/docs/Programa_RTE.pdf).
- SIM (Sistema de información microbiológica). 2016a. *Informe anual del sistema de información microbiológica 2015*. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-sistema-informacion-microbiologica/informes-generales.shtml>.
- SIM (Sistema de información microbiológica). 2016b. *Microorganismos declarados al sistema de información microbiológica. 1º, 2º y 3º trimestres del 2016*. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-sistema-informacion-microbiologica/informes-generales.shtml>.

- Sindelar, J.J., Glass, K., Hanson, B. 2016. *Investigating the Development of Thermal Processing Tools to Improve the Safety of Ready-To-Eat Meat and Poultry Products*. NAMIF (North American Meat Institute Foundation) Final Report; March. University of Wisconsin-Madison and HansonTech. 54 pp.
- Suárez, M.M., Bautista, R.S., Almela, M., Soriano, A., Marco, F., Bosch, J., Martínez, J.A., Bové, A., Trilla, A. y Mensa, J. 2007. *Bacteriemia por Listeria monocytogenes: análisis de 110 casos*. Medicina Clínica. Vol. 129(6), pp. 218-221.
- Thévenot, D., Delignette-Muller, M.L., Christieans, S., Leroy, S., Kodjo, A., Vernozy-Rozand, C. 2006. *Serological and molecular ecology of Listeria monocytogenes isolates collected from 13 French pork meat salting-curing plants and their products*. International Journal of Food Microbiology, 112(2), pp. 153–161. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.017.
- Thimothe, J., Nightingale, K.K., Gall, K., Scott, V.N. y Wiedmann, M. 2004. *Tracking of Listeria monocytogenes in smoked fish processing plants*. Journal of Food Protection Vol. 67(2), pp. 328-341.
- Tienungoon, S., Ratkowsky, D.A., McMeekin, T.A. y Ross, T. 2000. *Growth Limits of Listeria monocytogenes as a Function of Temperature, pH, NaCl, and Lactic Acid*. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 66(11), pp. 4979-4987. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC92408/citedby/>.
- Tompkin, R.B. 2002. *Control of Listeria monocytogenes in the Food-Processing Environment*. Journal of Food Protection. Vol. 65(4), pp. 709-725.
- TR TS 034. 2013. *Reglamento técnico de la Unión Aduanera “De la seguridad de carne y productos cárnicos” (TR TS 034/2013)*. APROBADO mediante la resolución nº 68 del Consejo de la Comisión Económica Euroasiática del 9 de octubre de 2013. SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). Establecimientos exportadores Pecuarios. Unión Económica Euroasiática (Rusia, Bielorrusia, Kazajistán, Armenia y Kirguistán). Disponible en: [https://www2.sag.gob.cl/pecuaria/establecimientos\\_habilitados\\_exportar/normativa/federacion\\_rusa/normativa\\_federacion\\_rusa.html](https://www2.sag.gob.cl/pecuaria/establecimientos_habilitados_exportar/normativa/federacion_rusa/normativa_federacion_rusa.html).
- UNE-EN-ISO 11290-1: 1997/A1. 2005. *Microbiología de los alimentos para consumo humano y para animales. Método horizontal para la detección y el recuento de Listeria monocytogenes. Parte 1: Método de detección. Modificación 1: Modificación del medio de aislamiento y de la prueba de la hemólisis e inclusión de los datos de precisión (ISO 11290-1:1996/AM1:2004)*. Asociación Española de Normalización y Certificación.
- UNE-EN-ISO 11290-2: 2000/A1. 2005. *Microbiología de los alimentos para consumo humano y para animales. Método horizontal para la detección y recuento de Listeria monocytogenes. Parte 2: Método de recuento. Modificación 1: Modificación del medio de recuento (ISO 11290-2:1998/AM1:2004)*. Asociación Española de Normalización y Certificación.
- UNE-EN ISO/IEC 17025:2005. *Evaluación de la conformidad. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración*. Asociación Española de Normalización y Certificación.
- USDA-FSIS. 2017. *FSIS Procedure for the Use of a Listeria monocytogenes Polymerase Chain Reaction (PCR) Screening Test*. United States Department of Agriculture Food Safety And Inspection Service, Office of Public Health Science. Revision: .06. (1/2/2017). MLG 8A.06. Disponible en: <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/fsis-content/internet/main/topics/science/laboratories-and-procedures/guidebooks-and-methods/microbiology-laboratory-guidebook/microbiology-laboratory-guidebook>.
- Uyttendaele, M., De Troy, P., y Debevere, J. 1999. *Incidence of Listeria monocytogenes in different types of meat products on the Belgian retail market*. International Journal of Food Microbiology, 53(1), pp. 75-80.
- Uyttendaele, M., Busschaert, P., Valero, A., Geeraerd, A.H., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Goh, K.K., De Loy, A., Van Impe, J.F. y Devlieghere, F. 2009. *Prevalence and challenge tests of Listeria monocytogenes in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007*. International Journal of Food Microbiology. Vol. 133(1-2), pp. 94–104. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.002.
- Van Lieverloo, J.H.M., De Rode, M., Fox, M.B., Zwietering, M.H. y Wells-Bennik, M.H.J. 2013. *Multiple regression model for thermal inactivation of Listeria monocytogenes in liquid food products*. Food Control. Vol. 29(2), pp. 394-400. doi:10.1016/j.foodcont.2012.05.078.



- Varma, J.K., Samuel, M.C., Marcus, R., Hoekstra, R.M., Medus, C., Segler, S., Anderson, B.J., Jones, T.F., Shiferaw, B., Haubert, Megginson, N., McCarthy, P.V., Graves, L., Van Gilder, T. y Angulo, F.J. 2007. *Listeria monocytogenes Infection from Foods Prepared in a Commercial Establishment: A Case-Control Study of Potential Sources of Sporadic Illness in the United States*. Clinical Infectious Diseases, Volume 44(4), pp. 521–528. <https://doi.org/10.1086/509920>.
- Vít, M., Olejník, R., Dlhý, J., Karpíšková, R., Částková, J., Příkazský, V., Příkazská, M., Beneš, Č y Petráš, P. 2007. *Outbreak of listeriosis in the Czech Republic, late 2006 – preliminary report*. Euro Surveill, 12(6):pii=3132. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3132>.
- Vitas, A.I., Aguado, V. y García-Jalón, I. 2004. *Occurrence of Listeria monocytogenes in fresh and processed foods in Navarra (Spain)*. International Journal of Food Microbiology. Vol. 90(3), pp. 349–356. doi:10.1016/S0168-1605(03)00314-3.
- Vivant, A.L., Garmyn, D. y Piveteau, P. 2013. *Listeria monocytogenes, a down-to-earth pathogen*. Review article. Cellular and Infection Microbiology. Vol,3, pp. 87. doi: 10.3389/fcimb,2013,00087.
- Wallecha, A., Driscoll Carroll, K., Maciag, P.C., Rivera, S., Shahabi, V. y Paterson, Y. 2009. *Multiple effector mechanisms induced by recombinant Listeria monocytogenes anti-cancer immunotherapeutics*. Advances in applied microbiology. Vol,66, pp. 1-27. doi:10.1016/S0065-2164(08)00801-0.
- Warriner, K., y Namvar, A. 2009. *What is the hysteria with Listeria?* Trends in Food Science & Technology. Vol. 20, pp. 245-254.
- Weatherill, S. 2009. *Report of the independent investigator into the 2008 listeriosis outbreak*. Monograph. Available from: <http://publications.gc.ca/site/eng/9.692888/publication.html>.
- Williams, S.K., Roof, S., Boyle, E. A., Thippareddi, H., Burson, D., Nightingale, K.K., y cols. 2008. *A longitudinal study on Listeria monocytogenes contamination patterns in small and very small ready- to-eat meat processing plants*. 108th General Meeting of the American Society for Microbiology, 1-5 June, Boston. Abstract No. P-067.
- Williams, S.K., Nightingale, K.K., Sofos, J.N., Scanga, J.A., Roof, S., Wiedmann, M., y cols. 2009. *Molecular ecology of Listeria in small and very small ready-to-eat meat processing plants*. 109th General Meeting of the American Society for Microbiology, 17-21 Mayo, Philadelphia. Abstract No. P-058.
- Williams, S.K., Roof, S., Boyle, E.A., Burson, D., Thippareddi, H., Geornaras, I., Sofos, J.N., Wiedmann, M. y Nightingale, K. 2011. *Molecular Ecology of Listeria monocytogenes and Other Listeria Species in Small and Very Small Ready-to-Eat Meat Processing Plants*. Journal of Food Protection. Vol. 74(1), pp. 63-77.
- Yde M, Botteldoorn N, Bertrand S, Collard JM, Dierick K. 2010. *Microbiological and molecular investigation of an increase of human listeriosis in Belgium, 2006-2007*. Euro Surveill. Vol. 15(6):pii=19482. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19482>.



